

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

V Workshop Nazionale Enter-net Italia  
Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche

**Sorveglianza e prevenzione  
delle infezioni gastroenteriche**

Istituto Superiore di Sanità  
Roma, 1-2 dicembre 2005

**RIASSUNTI**

A cura di

Alfredo Caprioli (a), Ida Luzzi (b) e Susanna Lana (c)

*(a) Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale*

*(b) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate*

*(c) Centro Nazionale di Epidemiologia Sorveglianza e Promozione della Salute*

ISSN 0393-5620  
**ISTISAN Congressi**  
**05/C12**

Istituto Superiore di Sanità

**V Workshop Nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche. Sorveglianza e prevenzione delle infezioni gastroenteriche. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 1-2 dicembre 2005. Riassunti.**

A cura di Alfredo Caprioli, Ida Luzzi e Susanna Lana  
2005, v, 86 p. ISTISAN Congressi 05/C12 (in italiano)

Enter-net è una rete europea per la sorveglianza delle infezioni enteriche che effettua il monitoraggio delle infezioni da *Salmonella*, *E. coli* O157 e altri VTEC. Gli obiettivi sono l'armonizzazione dei metodi di tipizzazione, il mantenimento di database aggiornati, l'identificazione e il controllo degli episodi epidemici, il monitoraggio del fenomeno della antibiotico-resistenza nei ceppi batterici isolati. L'Italia è rappresentata nel progetto dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), che coordina un sistema di sorveglianza nazionale che coinvolge numerosi laboratori del Servizio Sanitario Nazionale operanti nei settori umano, veterinario e ambientale. Dal 2001, le attività di Enter-net Italia vengono presentate nel corso di un workshop che quest'anno oltre a presentare le attività del Sistema di sorveglianza, fornirà un aggiornamento sull'epidemiologia e patogenesi delle infezioni gastroenteriche

*Parole chiave:* Infezioni gastroenteriche, Sorveglianza, Patogenesi

Istituto Superiore di Sanità

**V National Workshop Enter-net Italia. Surveillance system of enteric infections. Surveillance and prevention of gastroenterical infections. Istituto Superiore di Sanità. Rome, December 1-2, 2005. Abstract Book.**

Edited by Alfredo Caprioli, Ida Luzzi and Susanna Lana  
2005, v, 86 p. ISTISAN Congressi 05/C12 (In Italian)

Enter-net is an international network for the surveillance of human gastrointestinal infections, which monitors salmonellosis and Verocytotoxin producing *E. coli* (VTEC) O157, including their antimicrobial resistance. Main objectives of Enter-net are the harmonisation of typing methods, the establishment of a regularly update international database including the antimicrobial susceptibility of the isolates, the recognition and investigation of outbreaks. The Istituto Superiore di Sanità (ISS) represents Italy in the network and coordinates a national surveillance system that involves laboratories operating in the medical, veterinary and environmental fields. Since 2001, Enter-net Italia activities are presented in an annual workshop. This year the workshop is structured as a meeting that, beside presenting Enter-net activities, will provide an updating of the epidemiologic and pathogenetic aspects of gastrointestinal infections

*Key words:* Gastrointestinal infections, Surveillance, Pathogenesis

Responsabili scientifici: Ida Luzzi e Alfredo Caprioli

Per informazioni su questo documento scrivere a: [luzzi@iss.it](mailto:luzzi@iss.it), [a.caprio@iss.it](mailto:a.caprio@iss.it)

Il rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it)

---

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*  
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Egiziana Colletta e Patrizia Mochi*  
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© 2005 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)

## INDICE

<b>Programma .....</b>	<b>iii</b>
<b>Note per la consultazione .....</b>	<b>v</b>
<b>Relazioni .....</b>	<b>1</b>
<b>Comunicazioni orali e poster .....</b>	<b>13</b>
<b>Indice degli autori .....</b>	<b>83</b>



## PROGRAMMA

### Giovedì 1 dicembre 2005

- 14.30 Registrazione dei partecipanti  
15.00 Indirizzo di benvenuto e introduzione

#### Prima sessione

#### **SISTEMA DI SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI ENTERICHE ENTER-NET ITALIA: PRESENTAZIONE DELLE ATTIVITÀ 2004-2005**

*Moderatori:* **Maria Grazia Pompa, Ugo Santucci**

- 15.15 *Risultati delle attività della rete Enter-net*  
**Ida Luzzi**
- 15.30 *Piani di sorveglianza e controllo delle salmonellosi nell'Unione Europea e ricadute operative a livello nazionale*  
**Antonia Ricci**
- 15.45 Comunicazioni orali
- 17.00 Confronto e dibattito
- 18.00 Chiusura dei lavori

### Venerdì 2 dicembre 2005

- 8.30 Registrazione dei partecipanti

#### Seconda sessione

#### **EPIDEMIOLOGIA E PREVENZIONE**

*Moderatori:* **Caterina Mammina, Antonio Battisti** Errore. Il segnalibro non è definito.

- 9.00 *La tipizzazione molecolare a supporto dell'epidemiologia e prevenzione delle infezioni gastroenteriche*  
**Antonino Nastasi**
- 9.15 *La diarrea nosocomiale*  
**Roberto Serra**

- 9.30 Comunicazioni orali  
10.30 Confronto e dibattito  
11.0 Intervallo e visione poster

### **Terza sessione**

#### **INFEZIONI TRASMESSE DA ACQUA E DA ALIMENTI**

*Moderatori:* **Mirella Pontello, Guido Petracca**

- 11.30 *Sorveglianza delle tossinfezioni alimentari in Regione Toscana*  
**Emanuela Balocchi**
- 11.45 *Infezioni trasmesse dalle acque*  
**Edoardo Pozio**
- 12.00 Comunicazioni orali  
13.00 Confronto e dibattito  
13.30 Intervallo e visione poster

### **Quarta sessione**

#### **PATOGENESI DELLE INFEZIONI GASTROENTERICHE**

*Moderatori:* **Donato Menichella, Alfredo Caprioli**

- 14.30 *Patogenesi della gastroenterite acuta in pediatria*  
**Roberto Berni Canani**
- 14.45 *Infezioni da Escherichia coli O157: ruolo patogenetico delle Shiga-tossine*  
**Maurizio Brigotti**
- 15.00 Comunicazioni orali  
15.40 Confronto e dibattito  
16.20 Verifica dell'apprendimento e conclusioni  
16.30 Chiusura dei lavori

## NOTE PER LA CONSULTAZIONE

Il presente lavoro raccoglie tutti gli abstract delle relazioni e dei contributi presentati al workshop.

I lavori sono divisi in due sezioni:

– *Relazioni*

Contiene gli abstract secondo l'ordine previsto nel programma.

– *Comunicazioni orali e poster*

I riassunti sono presentati in ordine alfabetico del primo autore: i poster sono contrassegnati con la lettera P.

Alla fine del volume è presente un indice degli autori di ogni singolo contributo.



## **RELAZIONI**



## RISULTATI DELLE ATTIVITÀ DELLA RETE ENTER-NET

Ida Luzzi (a), Pasquale Galetta (a), Gaia Scavia (b), Alfredo Caprioli (b)

(a) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Enter-net Italia è la sezione nazionale della rete europea di sorveglianza per gli enterobatteri patogeni. Il sistema, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), raccoglie i dati relativi agli isolamenti di *Salmonella spp.*, *E. coli* verotossina produttori e *Campylobacter spp.* da fonti diverse. Nel nostro Paese il primo livello del sistema è costituito dai laboratori di microbiologia che, operando sul territorio, effettuano gli isolamenti di enteropatogeni da casi di infezione. I ceppi di *Salmonella* e *Campylobacter* vengono inviati ai laboratori regionali di riferimento che eseguono la tipizzazione biochimica e sierologica e i saggi di sensibilità agli antibiotici e inviano all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) i dati raccolti e una selezione di ceppi per una ulteriore subtipizzazione. L'ISS inoltre sottopone alle indagini diagnostiche anche ceppi di *E. coli* inviati dai laboratori di microbiologia clinica e isolati da pazienti con sospette infezioni da VTEC. Ogni anno vengono riportati al sistema Enter-net tra i 5.000 e i 6.000 isolamenti di *Salmonella* da campioni umani, circa 3.000 isolamenti da animali e alimenti e 3.000 da ambiente tutti con la specifica del sierotipo. Nel 2004 sono stati riportati 5.156 ceppi di *Salmonella* isolati da casi di infezione umana. *S. typhimurium* è risultato il sierotipo più frequentemente isolato seguito da *S. enteritidis*, insieme questi 2 sierotipi rappresentano il 73,8% di tutti i ceppi isolati. Salmonelle appartenenti al cosiddetto "nuovo sierotipo" con formula antigenica 4,5,12;i;- sono aumentate rispetto all'anno precedente (3%). Anche la percentuale di isolamenti di *S. Napoli* è aumentata nel 2004 e come per gli anni passati gli isolamenti sono prevalenti nei mesi estivi e in Lombardia. L'infezione da *E. coli* produttori di verotossina e la sindrome emolitico uremica (SEU) non sono malattie a notifica obbligatoria e la sorveglianza viene condotta su base volontaria. Un sistema di sorveglianza della SEU in pazienti pediatrici è attivo dal 1988. Ogni anno vengono in media notificati 30 casi di SEU pari ad un'incidenza di circa 0,3 casi per 100.000 residenti di età da 0 a 14 anni. Questa incidenza è rimasta stabile negli anni. Come per gli anni precedenti il più comune sierogruppo VTEC isolato nel corso del 2004 è stato 026 mentre VTEC 0157 ha rappresentato solo il 35% dei casi riportati. Il maggior numero dei casi è stato riscontrato in età pediatrica, in particolare in pazienti al di sotto dei 5 anni d'età. La campilobatteriosi non è una malattia a notifica obbligatoria e *Campylobacter* non viene ricercato di routine nei casi di gastroenterite. Nel 2004 sono stati notificati al sistema 582 isolamenti di *Campylobacter*, il 70% appartenente alla specie *C. jejuni*. Il 43% degli isolamenti è stato registrato tra luglio e settembre e la percentuale di ceppi resistenti ai fluorochinoloni rimane elevata con un 50% di ceppi resistenti alla ciprofloxacina.

## **PIANI DI SORVEGLIANZA E CONTROLLO DELLE SALMONELLOSI NELL'UNIONE EUROPEA E RICADUTE OPERATIVE A LIVELLO NAZIONALE**

Antonia Ricci, Veronica Cibin, Marzia Mancin

*Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

A livello Comunitario le strategie da perseguire per il controllo delle malattie a trasmissione alimentare, e delle infezioni da *Salmonella* in particolare, sono definite dalla Direttiva 2003/99 e dal Regolamento 2160/2003. Il Regolamento 2160/2003, “sul controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti”, sancisce la necessità che i Paesi Membri (PM) applichino misure di controllo specifiche finalizzate ad ottenere una graduale riduzione della prevalenza dei sierotipi di *Salmonella* rilevanti per la sanità pubblica in diverse specie e categorie produttive; stabilisce inoltre i tempi e i modi per la definizione degli obiettivi di riduzione e per l’attuazione dei piani di controllo. Per fissare gli obiettivi di riduzione nei tempi previsti è necessario che la Commissione disponga di dati comparabili riguardo alla prevalenza di infezione in tutti i PM. Si è ritenuto quindi opportuno mettere a punto a livello comunitario degli studi, di durata annuale, mirati a definire la prevalenza di *Salmonella spp.* nei vari settori produttivi, secondo un calendario prestabilito. Con il Regolamento (CE) 1003/2005 del 30 giugno 2005 la Commissione ha definito l’obiettivo di riduzione della prevalenza nei gruppi di riproduttori della specie *Gallus gallus*, sulla base dei dati generati dall’attività di sorveglianza prevista dalla Direttiva 92/117. L’obiettivo comunitario è la riduzione all’1% della percentuale massima di gruppi di riproduttori positivi, considerando in prima applicazione i primi 5 sierotipi di *Salmonella* isolati nell’Unione Europea nell’uomo (*Enteritidis*, *Typhimurium*, *Infantis*, *Hadar* e *Virchow*). Tale obiettivo dovrà essere raggiunto entro il 31 dicembre 2009. Entro il 12 dicembre 2005 è previsto vengano fissati gli obiettivi di riduzione della prevalenza nelle galline ovaiole. Al fine di ottenere dati comparabili relativi alla prevalenza di *Salmonella spp.* è stato messo a punto uno studio mirato a stimare la prevalenza di infezione (Decisione C(2004) 3512 del 22/09/04); tale studio ha avuto durata annuale (da ottobre 2004 a settembre 2005) ed è stato contemporaneamente effettuato da tutti i PM. A partire dal 1° ottobre 2005 trova applicazione lo studio messo a punto dalla Commissione (Decisione C(2005) 3276 del 1 settembre 2005) per stimare la prevalenza di *Salmonella spp.* nei broiler (entro il 12 dicembre 2006 è prevista infatti la definizione degli obiettivi per questa categoria produttiva). La dimensione del campione per ciascun PM è stata calcolata considerando una prevalenza attesa del 50%, un’accuratezza del 5% e un intervallo di confidenza del 95%. In generale il campionamento dovrà essere effettuato in gruppi di animali prossimi alla macellazione in allevamenti con almeno 5.000 polli e consisterà in 5 campioni di feci prelevati attraverso l’ausilio di soprascarpe. L’analisi dei campioni prevede l’utilizzo delle stesse metodiche identificate per lo studio di prevalenza nelle galline ovaiole. In conclusione, la nuova normativa sulle zoonosi ha definito delle strategie operative che consentono oltre che di conoscere in modo chiaro la situazione sanitaria degli allevamenti anche di poter metter in atto efficaci misure di controllo finalizzate alla tutela della salute pubblica.

# **I METODI MOLECOLARI COME STRUMENTO PER L'EPIDEMIOLOGIA E LA PREVENZIONE DELLE ZONOSI A TRASMISSIONE ALIMENTARE**

Antonino Nastasi

*Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze*

La ricostruzione delle catene di contagio delle infezioni è fondamentale ai fini dell'interruzione delle medesime e, quindi, della prevenzione. Si tratta di un processo la cui necessità è imprescindibile nelle zoonosi a veicolo alimentare, dal momento che alle problematiche generali delle malattie a catena di contagio omogenea eteronima si associa la complessità degli aspetti eco-epidemiologici del veicolo alimentare. I microrganismi patogeni ad ecologia animale presentano spesso una grande eterogeneità fenotipica e genetica, come effetto di processi di differenziazione e selezione, che possono comportare difficoltà anche notevoli nella scelta, applicazione e standardizzazione di metodiche di caratterizzazione clonale, alle quali si richiede molto spesso anche rapidità, semplicità e costi contenuti. Le metodiche di tipizzazione fenotipica, per molto tempo utilizzate come unico strumento disponibile, mostrano, in generale, capacità discriminative insoddisfacenti, alla luce di quanto prima affermato e delle complesse vie di diffusione che animali e derrate alimentari percorrono in un mondo globalizzato. L'applicazione di metodiche molecolari che si basano su caratteri stabili permette, invece, generalmente una ricostruzione più attendibile degli eventi. Nel tempo, tra l'altro, le strategie di tipizzazione si sono evolute con l'utilizzazione ormai ampiamente diffusa di marker genetici a localizzazione cromosomica piuttosto che plasmidica, anche se non si può trascurare l'efficacia ai fini dell'identificazione di cloni peculiari circolanti in contesti temporo-spaziali limitati delle metodiche basate su caratteri fenotipici "instabili". Le tecniche di tipizzazione basate sull'amplificazione genica hanno guadagnato interesse crescente, in quanto adottabili più facilmente da laboratori meno sofisticati di quelli ad alta specializzazione di biologia molecolare. Inoltre, si vanno progressivamente affermando metodologie automatizzate che, oltre a soddisfare le esigenze sopra espresse, contribuiscono in modo determinante alla standardizzazione intra- e interlaboratorio delle metodologie. Non trascurabile è, infine, diventata l'importanza dello studio degli spettri di resistenza ai chemioantibiotici, non soltanto basato sui caratteri fenotipici ma integrato dalla caratterizzazione dei rispettivi determinanti genetici, espressione dell'adattamento microbico all'ecosistema e, quindi, marker epidemiologici molto utili nella ricostruzione delle vie di trasmissione delle infezioni.

## LA DIARREA NOSOCOMIALE

Roberto Serra

SCDO Microbiologia, Azienda Sanitaria Ospedaliera S.G. Battista, Torino

CDC definisce la Gastroenterite Nosocomiale (GN) come l'insorgenza di diarrea durante il ricovero, con emissione di feci liquide da più di 12 ore, in presenza o meno di vomito e/o febbre, in assenza di probabili cause non infettive oppure la presenza di sintomi quali nausea, vomito, dolore addominale con evidenza oggettiva di infezione enterica (positività della coltura, o di altri test quali ME, ricerca antigeni, tossine o anticorpi). Non vi deve essere alcuna evidenza che l'infezione fosse manifesta o in incubazione al momento del ricovero in ospedale. Nonostante tutti gli agenti eziologici di gastroenterite infettiva possano essere acquisiti in ospedale, i principali patogeni associati a diarrea di origine nosocomiale sono rappresentati soprattutto da *C. difficile* (ceppi tossinogenici), rotavirus, Norovirus e, con frequenza minore, da Salmonelle, alcuni ceppi enteritogeni di *E. coli*, *S. aureus* (enterotossina), *C. perfringens*. La reale frequenza con cui i vari agenti eziologici causano GN è in realtà impossibile da stabilire, in parte per effetto della sottonotifica dei casi (sono segnalati tutt'al più gli eventi epidemici), in parte per inadeguatezza diagnostica dei laboratori che si limitano alla ricerca dei patogeni più noti. NNIS riporta per il periodo 1985-1994 un tasso di 10,5 casi di GN ogni 10.000 ricoveri la cui eziologia è in gran parte batterica (*C. difficile* 91%, Rotavirus 5,3%). Studi di sorveglianza più recenti attribuiscono importanza crescente alle gastroenteriti virali (Calicivirus e Rotavirus). È inoltre verosimile che nei paesi in via di sviluppo sia rilevante l'incidenza di GN sostenute da *Salmonella* e *Shigella*. Tra i fattori di rischio sono comprese le età estreme, l'acloridria, la compromissione delle difese immunitarie, il ricovero in unità di terapia intensiva, la durata del ricovero stesso, la presenza di portatori colonizzati o infetti e, in generale, tutte le cause di natura intrinseca o estrinseca che comportano una alterazione della flora microbica intestinale. Il patogeno introdotto dall'esterno dai pazienti o dal personale, specie in concomitanza di epidemie in comunità, o presente endemicamente all'interno della struttura si trasmette per contatto diretto interumano o indirettamente, attraverso veicoli contaminati, spesso con le mani del personale: la via di trasmissione è quella oro-fecale, anche se, nel caso di talune infezioni virali, è possibile una trasmissione mediata da *droplets*. La diagnosi delle GN di origine batterica prevede l'isolamento in coltura del patogeno cui segue l'identificazione con tecniche convenzionali e/o la ricerca diretta nel campione di suoi costituenti (antigeni, tossine) con tecniche immunometriche. La diagnosi eziologica delle GN di origine virale, per molto tempo eseguibile solo in ME, ha beneficiato di recente dell'applicazione di tecniche immunometriche o biomolecolari (PCR): la diffusione di questi test nei laboratori di microbiologia clinica è destinata a contribuire a una diagnostica più accurata delle GN stesse e a una conoscenza più approfondita della loro epidemiologia. Tra le GN di origine batterica assume notevole rilevanza per diffusione e gravità la diarrea associata a *C. difficile* (DACD). L'infezione è caratterizzata in genere da diarrea, crampi addominali, tenesmo, leucocitosi, raramente febbre, ma può presentarsi in forma asintomatica o, in casi estremi, con il quadro della colite pseudomembranosa, caratterizzata dalla presenza di pseudomembrane all'esame coloscopico e da frequenti complicanze

talvolta mortali (megacolon tossico, perforazione intestinale ecc.). L'incidenza della DACD, variabile a seconda delle casistiche, è compresa tra 0,5-30 casi ogni 1.000 ricoveri. Tra i fattori di rischio, oltre a quelli identificati in precedenza per le GN in genere, vi sono l'età superiore a 65 anni e la pregressa somministrazione di antibiotici: tali fattori comportano una alterazione della microflora enterica che a sua volta favorisce la colonizzazione da parte di ceppi di *C. difficile* di provenienza endogena o esogena. Solo i ceppi che producono tossina A e B o tossina B sono in grado di produrre la malattia. Le tossine, di natura proteica, agiscono principalmente sul citoscheletro dell'enterocita con conseguente effetto citopatico. La diagnosi prevede la ricerca delle tossine nelle feci con tecniche immunometriche: data la possibile presenza di ceppi produttori unicamente di tossina B è importante che il metodo utilizzato preveda la ricerca di entrambe le tossine. La ricerca dell'effetto citopatico su linee cellulari, pur essendo tuttora considerato di riferimento, viene eseguito da pochi laboratori. Di recente è stata proposta la ricerca di *C. difficile* tossinogenico con la tecnica della *Real-time* PCR. La coltura è sempre raccomandata sia per sottoporre a test di tossinogenesi *in vitro* ceppi isolati da campioni tossina-negativi che per scopi epidemiologici. La tipizzazione dei ceppi isolati mediante tecniche biomolecolari (SDS PAGE, REA/RFLP, PFGE, PCR ribotyping) è utile specie in caso di epidemia. Il trattamento della DACD prevede la sospensione del trattamento antibiotico eventualmente in atto e la somministrazione di metronidazolo o di vancomicina *per os*. Le ricadute (reinfezioni o recidive) sono tuttavia frequenti. La prevenzione prevede oltre alla limitazione dell'uso degli antibiotici in generale, l'uso dei guanti per il personale di assistenza e l'attivazione dei protocolli di isolamento da contatto in caso di infezione. È sconsigliato il saggio di campioni di feci non diarroiche così come non è indicato il trattamento dei portatori asintomatici.

# **APPLICAZIONE DI LINEE GUIDA PER L'INDAGINE EPIDEMIOLOGICA: L'ESPERIENZA DELLA REGIONE TOSCANA**

Emanuela Balocchini

*Assessorato alla Sanità Regione Toscana, Firenze*

La creazione di un sistema efficace di raccolta di dati sulle malattie infettive a trasmissione alimentare registrate nella popolazione umana è essenziale affinché le informazioni prodotte svolgano un ruolo di indirizzo per la individuazione delle priorità sanitarie e la valutazione dell'efficacia dei programmi di prevenzione. La costruzione di un sistema di sorveglianza delle malattie a trasmissione alimentare permette di perseguire complessivamente i seguenti obiettivi:

- seguire l'evoluzione dell'incidenza delle infezioni e delle loro conseguenze (complicanze, esiti, ecc.);
- individuare e descrivere le epidemie;
- orientare le misure di prevenzione;
- monitorare e valutare i programmi di prevenzione;
- seguire i fattori di rischio (veicoli, fonti, comportamenti e abitudini alimentari, consumi, ecc.);
- sorvegliare i trattamenti (es. resistenza alle terapie);
- conoscere i microrganismi circolanti.

## PARASSITI TRASMESSI ATTRAVERSO LE ACQUE

Edoardo Pozio, Marco Lalle, Simone Cacciò

*Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Nei paesi industrializzati le acque possono veicolare protozoi patogeni mentre sono ormai totalmente scomparsi gli elminti. I protozoi trasmessi dalle acque che hanno causato e causano maggiori problemi per la loro patogenicità o per la loro ampia diffusione sono quelli appartenenti ai generi:

- *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Cyclospora*, *Entamoeba* e alcune specie di microsporidi (generi *Encephalitozoon* e *Enterocytozoon*) causa di enteriti più o meno gravi in relazione all'agente eziologico e allo stato immunitario dell'ospite;
- *Toxoplasma condii* causa di infezione per lo più asintomatiche, ma di gravi lesioni nel caso di trasmissione verticale da madre a figlio e nei soggetti con AIDS;
- *Naegleria* causa di meningoencefalite amebica primaria (MEAP), *Balamuthia* di encefalite amebica granulomatosa e *Acanthamoeba* agente di più o meno gravi cheratiti nei portatori di lenti a contatto;
- altre specie di microsporidi che possono essere causa di infezioni sistemiche o di infezioni che si localizzano a particolari organi o sistemi come ad esempio i muscoli.

Alcuni di questi patogeni (*Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e i microsporidi) possono anche avere un'origine zoonotica. La maggior parte di questi patogeni sono parassiti obbligati, mentre quelli appartenenti ai generi *Naegleria*, *Acanthamoeba* e *Balamuthia* sono protozoi a vita libera. Le forme di resistenza di questi patogeni (oocisti e cisti) possono sopravvivere nelle acque per settimane e mesi. Le amebe a vita libera vivono per lo più nelle acque termali, laghi, ecc. ma le loro forme di resistenza possono essere anche trasmesse attraverso la polvere e quindi inalate con la respirazione. Varie tipologie di acque sono state implicate nella trasmissione: acque potabili (la potabilizzazione non è in grado di devitalizzare ed eliminare le forme di resistenza e le forme trofiche delle amebe a vita libera), acque ricreative (il cloro delle piscine non è in grado di devitalizzare questi patogeni), acque di superficie (fiumi, laghi, canali), pozzi e sorgenti superficiali, acque per l'irrigazione, e acque reflue nelle quali si raggiungono concentrazioni di migliaia di questi patogeni per litro. Gli impianti di depurazione delle acque riescono ad abbattere la maggior parte di questi patogeni, ma una piccola ma significativa percentuale è in grado di passare negli effluenti in uscita rappresentando una nuova sorgente di infezione quando queste acque vengono utilizzate per l'irrigazione di ortaggi o frutti che vengono consumati crudi. Essendo *Cryptosporidium* e *Giardia* le specie più frequentemente riscontrate nelle acque, sono quelle per le quali è possibile reperire in commercio anticorpi monoclonali o altri sistemi utili al loro rilevamento nelle acque o sugli alimenti e sono pertanto quei patogeni per i quali sono state documentate numerose epidemie veicolate dall'acqua potabile che in alcuni casi ha interessato centinaia di migliaia di persone. Sono state documentate anche epidemie da *Toxoplasma* e da *Cyclospora*. Per quanto riguarda l'Italia, mancano dati precisi sulla prevalenza di questi patogeni nella popolazione umana e sul ruolo delle acque nella loro trasmissione. La prevalenza di *Giardia* varia dall'1 al 5-6% a seconda degli studi e

delle categorie coinvolte. Per quanto riguarda *Cryptosporidium*, nel 1995 è stata descritta un'epidemia causata dalla contaminazione della rete idrica che ha presumibilmente coinvolto circa 100 mila persone con 16 decessi tra gli individui affetti da AIDS. L'infezione da *Toxoplasma* interessa circa il 40% della popolazione italiana, ma essendo le modalità di trasmissione molto varie, non è possibile conoscere quale impatto possa avere la trasmissione idrica. Rare sono le infezioni da *Entamoeba histolytica* e da microsporidi. Nel nostro paese sono stati segnalati centinaia di casi di cheratite da *Acanthamoeba* in portatori di lenti a contatto, ma non sono mai state riscontrate infezioni da *Cyclospora*, *Naegleria* e *Balamuthia*.

## **PATOGENESI DELLA GASTROENTERITE ACUTA IN PEDIATRIA**

Roberto Berni Canani, Alfredo Guarino, Fabio Albano, Chiara Postiglione  
*Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi Federico II, Napoli*

Qualunque sia l'eziologia, la diarrea infettiva può essere ricondotta essenzialmente a un disturbo del trasporto dei fluidi, degli elettroliti e dei soluti a livello intestinale. Quattro meccanismi possono essere responsabili dell'alterazione del movimento di fluidi ed elettroliti associati alla diarrea: aumento dell'osmolalità intraluminale, aumento della secrezione, diminuzione dell'assorbimento dei fluidi, alterata motilità intestinale. In base al meccanismo fisiopatologico principale è possibile classificare la diarrea in 4 categorie, anche se spesso è in gioco più di un meccanismo:

- diarrea osmotica;
- diarrea secretiva;
- diarrea infiammatoria;
- diarrea da disturbi della motilità.

La diarrea osmotica è secondaria al danno cellulare con riduzione della superficie assorbitiva. Il danno può essere causato sia dalla penetrazione del microrganismo nella mucosa sia dall'azione di citotossine elaborate dal microrganismo stesso. Ne deriva un'alterazione delle funzioni di digestione e assorbimento di nutrienti da parte dell'enterocita. La presenza di soluti non assorbiti nel lume intestinale esercita una forza osmotica con richiamo di liquidi nel lume e conseguente eccessiva perdita di acqua ed elettroliti. La diarrea secretiva è il risultato di uno sbilancio fra assorbimento e secrezione di acqua ed elettroliti nel lume intestinale a favore di quest'ultima. Le enterotossine prodotte da batteri ma anche da virus e da batteri, si legano a recettori epiteliali e aumentano le concentrazioni di mediatori intracellulari quali AMP-ciclico, GMP-ciclico e calcio con conseguente incremento della secrezione di cloro dalle cripte e inibizione del riassorbimento di sodio e cloro dai villi. La diarrea infiammatoria è conseguente all'invasione diretta da parte di un patogeno della mucosa intestinale. Questo determina una risposta infiammatoria con produzione di citochine, diminuzione della capacità assorbitiva e aumento della motilità. La diarrea da disturbi della motilità è conseguente ad un aumento della motilità intestinale che diminuisce il tempo di transito e quindi il rapporto tempo/superficie assorbente e liquidi/soluti contenuti nel lume; questo determina una riduzione della capacità assorbente della mucosa intestinale e di conseguenza diarrea osmotica. Anche una riduzione della motilità può tuttavia esitare in diarrea. In questo caso però non è l'infezione che causa il disturbo della motilità, ma è quest'ultimo che determina l'infezione. In pratica qualsiasi condizione che determina ipomotilità quali la pseudo-obstruzione intestinale idiopatica, la sindrome dell'ansa cieca, ecc., sono responsabili di un rallentamento del transito con ristagno fecale, dismicrobismo intestinale con prevalenza di enteropatogeni e infine danno della mucosa con diarrea prevalentemente infiammatoria. Le conoscenze nella fisiopatologia della gastroenterite forniscono le necessarie informazioni per lo sviluppo di strategie terapeutiche efficaci, il cui principale esempio resta la soluzione reidratante orale e la rialimentazione rapida.

## **INFEZIONI DA *ESCHERICHIA COLI* O157: RUOLO PATOGENETICO DELLE SHIGA TOSSINE**

Maurizio Brigotti (a), Alfredo Caprioli (b), Alberto Eugenio Tozzi (c), Pier Luigi Tazzari (d),  
Domenica Carnicelli (a), Gianfranco Rizzoni (c)

(a) *Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università degli Studi di Bologna*

(b) *Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma*

(d) *Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, Ospedale S. Orsola-Malpighi, Bologna*

La *Shiga tossine* (Stxs) prodotte da *Escherichia coli* O157 hanno un ruolo importante nella patogenesi della colite emorragica e della sindrome emolitica uremica (SEU). Il processo patogenetico inizia con la colonizzazione dell'intestino da parte dei batteri patogeni che producono localmente le Stxs. Queste danneggiano le cellule epiteliali dei villi intestinali e vengono adsorbite in circolo causando lesioni all'endotelio intestinale; ne risultano dolori addominali e diarrea ematica. In circolo le tossine aderiscono alla superficie dei neutrofili (PMN) e sono trasportate all'endotelio renale. Nel 5-10% dei pazienti, ad una settimana di distanza dalla sintomatologia enterica, compaiono insufficienza renale, trombocitopenia e anemia emolitica microangiopatica: la triade che caratterizza la SEU. Le Stxs infatti danneggiano l'endotelio renale, in conseguenza di ciò si ha la formazione di microtrombi che, riducendo il flusso ematico, causano insufficienza renale. Nel contempo il massivo impegno di piastrine nelle sedi di danno endoteliale determina trombocitopenia, mentre le lesioni meccaniche cui sono sottoposti gli eritrociti che attraversano il microcircolo renale, parzialmente occluso, determinano emolisi e anemia. La SEU rappresenta la prima causa di insufficienza renale acuta nei bambini sotto i tre anni di età.

Un nuovo metodo per la rilevazione citofluorimetrica delle Stxs legate ai neutrofili è stato applicato alla diagnosi di SEU in Italia in uno studio che ha coinvolto alcuni centri di nefrologia pediatrica di Roma, Napoli e Milano. Il metodo si è dimostrato rapido, affidabile e sensibile, e ha permesso di determinare le variazioni quantitative delle tossine nel sangue durante l'infezione naturale, contribuendo a definire la cinetica delle Stxs nell'organismo. Lo studio è stato condotto associando un metodo diagnostico già consolidato basato sulla ricerca delle Stxs in campioni fecali attraverso la verifica della loro tossicità per le cellule Vero. Analizzando 20 casi di SEU diagnosticati clinicamente abbiamo dimostrato che le Stxs possono essere rilevate nell'intestino per un tempo molto breve, mentre sono presenti in circolo per diversi giorni, anche dopo la loro completa scomparsa a livello enterico. L'emivita dei PMN in circolo è breve (6-7 ore), infatti queste cellule passano gran parte della loro vita (1-2 giorni) fuori dal circolo. La lunga emivita ematica delle tossine (5 giorni) è stata spiegata dimostrando che le Stxs:

- si trasferiscono da un PMN all'altro;
- inducono un aumento della durata di vita dei PMN;
- potrebbero interferire con il processo di migrazione leucocitaria.

Queste osservazioni aprono campi di indagine interessanti per la diagnosi, la prognosi e la patogenesi della SEU.

**COMUNICAZIONI ORALI  
E POSTER**



## **P1** INDAGINE RETROSPETTIVA SULL'EPIDEMIOLOGIA DEI ROTAVIRUS UMANI CIRCOLANTI A PARMA TRA IL 1987 E IL 1990: IDENTIFICAZIONE DI STIPITI DI ROTAVIRUS RIASSORTANTI INTER-GENOGRUPPO WA X DS-1

Laura Anna Abelli (a), Vito Martella (a), Monica Martinelli (a), Eleonora Lorusso (b),  
Maria Cristina Medici (a), Canio Buonavoglia (b), Giuseppe Dettori (a), Carlo Chezzi (a)

(a) *Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio  
Università degli Studi di Parma*

(b) *Dipartimento di Sanità e Benessere Animale, Università degli Studi, Valenzano, Bari*

I rotavirus sono virus ad RNA bicitenario segmentato (11 segmenti) e rappresentano una delle principali cause di enterite nell'uomo, specialmente quelli di gruppo A. I rotavirus sono classificati in G e P tipi sulla base delle proteine capsidiche VP7 e VP4. I principali G tipi identificati nei rotavirus umani sono G1, G2, G3, G4 e G9, mentre i principali P tipi sono P[8], P[6] e P[4]. La proteina VP6 del capsido interno, inoltre, esprime gli antigeni di sottogruppo (SG) I e II. L'analisi mediante ibridazione RNA-RNA ha evidenziato che i virus di ciascuna specie animale sono geneticamente molto simili tra loro, costituendo ciascuno un distinto genogruppo. Tuttavia i rotavirus umani sono distinguibili in almeno 3 genogruppi, AU-1-like, DS-1-like e Wa-like. La maggior parte dei rotavirus umani (G tipo G1, G3, G4 e G9 e P tipo P[8] e P[6]), hanno elettroferotipo (e-tipo) lungo, SGII e appartengono al genogruppo Wa-like. I rotavirus di genogruppo DS-1 comprendono quasi esclusivamente virus P[4],G2 con e-tipo corto e SGI. La natura segmentata del genoma dei rotavirus consente il riassortimento tra virus diversi, un meccanismo che genera una estrema diversificazione e guida l'evoluzione dei rotavirus. Tale fenomeno è molto frequente tra virus di uno stesso genogruppo, mentre è raro tra virus di genogruppi diversi. Nel presente lavoro si riportano i risultati di un indagine retrospettiva, volta a studiare l'epidemiologia dei rotavirus di gruppo A identificati a Parma nel corso del quadriennio 1987-1990. Sono stati inclusi nello studio, sulla base della disponibilità di materiale fecale conservato, 74 ceppi di rotavirus nell'ambito di 234 campioni di feci positivi su 1324 esaminati nel periodo 1987-1990 (prevalenza annuale compresa tra 9% e 25,5%). Il 55,4% (41 ceppi) è stato caratterizzato come P[8],G1. Tuttavia, almeno 6 ceppi P[8],G1 sono risultati essere dei riassortanti inter-genogruppo Wa x DS-1, in quanto associati a SGII ed e-tipo corto. Inoltre 2 stipiti con e-tipo corto e SGI hanno mostrato una doppia reattività VP7, G1/G2, suggerendo un carattere di virus mosaico (poliallelico), in cui, nel genoma di un virus DS-1-like è presente un gene derivato da un virus Wa-like. Nel complesso i dati suggeriscono una insolita circolazione di virus riassortanti inter-genogruppo a Parma negli anni 1987-1990. Questo dato trova pochi riscontri analoghi in letteratura e sottolinea come lo studio epidemiologico di questi virus non possa prescindere dall'analisi dell'e-tipo e della VP6.

## **P2 PREVALENZA DI SALMONELLA SPP. NELLE UOVA E NEGLI OVOPRODOTTI NELLA REGIONE PIEMONTE**

Daniela Adriano, Silvia Gallina, Vilma Sperone, Fulvio Brusa, Giorgio Fezia, Ettore Fontana, Paola Mogliotti, Cinzia Bianchi, Lucia Decastelli

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

La presenza di *Salmonella spp.* nella filiera avicola è un dato più volte sottolineato nella bibliografia internazionale; in particolare le uova possono essere contaminate prima della deposizione, in caso di presenza del patogeno all'interno dell'apparato riproduttivo, o successivamente a questa in seguito a contaminazione fecale. Il consumo di uova crude o poco cotte può rappresentare, quindi, un rischio per il consumatore; per tale motivo risulta essenziale valutare la prevalenza del patogeno all'interno delle uova e degli ovoprodotti. Il Regolamento CE 2160/2003 fissa, tra gli obiettivi da raggiungere, la riduzione della prevalenza degli agenti di zoonosi e, in particolare, di *Salmonella spp.* invitando gli Stati Membri all'attuazione di piani di controllo specifici finalizzati ad una corretta valutazione di tutta la filiera produttiva. Dal gennaio 2002 al luglio 2005 sono stati analizzati, presso il Laboratorio Controllo Alimenti dell'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, 525 campioni, rappresentati da uova (n=440) e ovoprodotti (n=85), prelevati dai Servizi Veterinari nell'ambito del controllo ufficiale. Le analisi sono state eseguite utilizzando la metodica normalmente in uso presso il laboratorio: si tratta di un metodo normato AFNOR V08-052 (1997), accreditato SINAL. I campioni di uova sono stati analizzati pesando 50 g di guscio e 50 g di tuorlo procedendo da entrambe le matrici in parallelo. Per ciò che attiene le uova si registra una prevalenza del 3,8% sui quattro anni; le positività annuali (2002=1,6%; 2003=2,9%; 2004=6,7%; 2005=2,1%) evidenziano valori costanti, intorno al 2% di positività, eccezion fatta per il 2004, anno in cui si assiste ad un'impennata con una prevalenza che supera il 6%. Si può, inoltre, effettuare un'ulteriore considerazione: nelle uova la componente ad essere maggiormente contaminata risulta essere il guscio (46,7%), seguita da guscio e tuorlo in contemporanea (33,3%) e, in ultimo, dal tuorlo (20%). Tale distribuzione evidenzia il ruolo cardine che riveste la contaminazione fecale dopo la deposizione; queste positività possono sicuramente essere ridotte con l'applicazione di corrette pratiche manageriali di gestione dell'allevamento. Negli ovoprodotti è stato possibile isolare, in due campioni (2,4%), *S. enteritidis*. I ceppi isolati, inoltre, sono stati tipizzati secondo lo schema Kaufmann-White: dai risultati ottenuti emerge che il sierotipo predominante risulta essere *S. enteritidis*, con una prevalenza del 66,7%. Altri sierotipi sono rappresentati da *S. typhimurium* e *S. hillington*, che presentano entrambe prevalenze del 9,5%; le prevalenze più basse si registrano per *S. gallinarum*, *S. saintpaul* e *S. bredney*, che si assestano, invece, intorno al 4,7%.

## **PREVALENZA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* E *SALMONELLA SPP.* IN SUINI DESTINATI ALLA PRODUZIONE DEL PROSCIUTTO DI PARMA**

Silvia Alonso Alvarez (a), Valentina Rizzi (b), Adolfo Pallotti (a), Vicdalia Aniela Acciari (b), Daria Boscolo (a), Vincenza Principe (b), Giacomo Migliorati (b), Andrea Serraino (a), Roberto Rosmini (a)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna;*

(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise G. Caporale, Teramo*

Gli accordi internazionali attualmente in vigore sulle misure sanitarie e fitosanitarie identificano l'analisi del rischio come strumento per motivare eventuali restrizioni al commercio di animali e prodotti di origine animale; analisi del rischio che deve essere fondata, per quanto possibile, su dati oggettivi raccolti lungo la filiera di produzione. In quest'ottica, l'obiettivo del lavoro è stato quello di stabilire la prevalenza di *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* all'interno di stabilimenti in cui vengono macellati i suini le cui cosce sono destinate alla produzione del prosciutto di Parma. Tra settembre 2003 e febbraio 2005 sono state campionate 791 carcasse di suino per ricerca e conta di *Salmonella spp.* e di *L. monocytogenes* e 511 campioni di materiale fecale per la presenza/assenza degli stessi patogeni. I suini - provenienti da allevamenti ubicati in Lombardia, Emilia Romagna, Piemonte e Veneto - sono stati macellati in 13 stabilimenti selezionati in base all'intensità di macellazione. I lotti di animali da campionare in ciascun macello sono stati selezionati in modo da garantire la rappresentatività degli allevamenti conferenti. La ricerca di *L. monocytogenes* è stata effettuata secondo la metodica ISO 11290: 1998 parte 1 e 2 mentre per *Salmonella spp.* sono state utilizzate la ISO 6579: 2002 e il metodo MPN previsto dalla USDA MLG.4.02. In tutti i macelli sono state evidenziate positività per *Salmonella spp.* con una stretta correlazione tra feci e carcasse, mentre *L. monocytogenes* è stata isolata soltanto in 7 stabilimenti su 13. Sulle carcasse sono state riscontrate prevalenze di *L. monocytogenes* del 2,3%, mentre un solo animale ne è risultato portatore fecale (0,2%). Prevalenze superiori sono state determinate per *Salmonella spp.*, riscontrata nel 9,6% degli animali e nel 14,3% delle carcasse. Gli isolati di *L. monocytogenes* appartengono ai 3 sierotipi 1/2 a, 1/2 b e 1/2 c. Quindici diversi sierotipi di *Salmonella spp.* sono stati isolati dalle carcasse e 8 dai campioni di materiale fecale. I sierotipi più ricorrenti sono *S. derby*, *S. tiphymurium*, *S. London*, *S. bredney* e *S. anatum*. Se i portatori fecali non sembrano rappresentare la principale fonte di contaminazione da *L. monocytogenes*, altrettanto non si può affermare per *Salmonella spp.* I risultati ottenuti evidenziano ancora una volta l'importanza dell'applicazione delle GMP, dello stretto controllo di tempi e temperature nelle varie fasi di macellazione e della necessità di applicare maggiori controlli a livello di allevamento.

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute nell'ambito della Ricerca Corrente 2002.*

## **COLONIZZAZIONE INTESTINALE DA CLOSTRIDI NEUROTOSSIGENI O *INTESTINAL TOXEMIA* *BOTULISM* ASPETTI DELLA CASISTICA ITALIANA 1984 – 2004**

Fabrizio Anniballi, Lucia Fenicia

*Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo, Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il quadro clinico del botulismo è caratterizzato da una paralisi flaccida simmetrica discendente. La malattia però si può presentare in 5 diverse forme sia tossiche che infettive dovute all'azione delle neurotossine prodotte *in vivo* dall'agente eziologico che può svilupparsi in ferite infette (botulismo da ferita) oppure colonizzare temporaneamente l'intestino di neonati (botulismo infantile, b.i.), ragazzi e adulti (botulismo intestinale dell'adulto). Queste ultime due forme vengono anche riportate in letteratura come *intestinal toxemia botulism*. Oltre al *Clostridium botulinum*, sono stati associati al botulismo, in particolare nelle forme infettive intestinali, anche altri clostridi neurotossigeni, quali il *Clostridium baratii* o negli USA e Ungheria e il *Clostridium butyricum* isolato in Italia, Cina e India. La *intestinal toxemia botulism* è il risultato della ingestione di spore di una delle tre specie di clostridi neurotossigeni che producono la tossina nel lume dell'intestino crasso. Questa viene assorbita nel colon e attraverso il circolo sanguigno raggiunge le sinapsi colinergiche periferiche delle giunzioni neuromuscolari. La microflora intestinale in condizioni normali è in grado di prevenire la germinazione delle spore del *C. botulinum* e la colonizzazione dell'intestino. È sottolineare che adulti e bambini al di sopra di un anno di età egolarmente ingeriscono basse cariche di spore di *C. botulinum* normalmente presenti in alimenti naturali sia cotti che crudi (per es. il miele) senza sviluppare la malattia. In considerazione della rarità della malattia, soprattutto nella forma dell'adulto, molto c'è ancora da chiarire soprattutto sui fattori predisponenti o di rischio e sulla effettiva incidenza. La casistica mondiale dell'*intestinal toxemia botulism* riporta al momento circa 1500 casi di botulismo infantile registrati quasi totalmente negli USA (incidenza 2/100.000 nati vivi) e circa 15 casi di colonizzazione intestinale dell'adulto. Benché il botulismo intestinale sia una sindrome molto rara anche nel nostro Paese (per il botulismo infantile l'incidenza è 0,18/ 100.000 nati vivi), l'Italia è al terzo posto dopo gli USA e l'Argentina per numero di casi e dal 1979 sono stati diagnosticati e studiati presso il Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo (CNRB) 22 casi di botulismo infantile e 3 dell'adulto con alcune caratteristiche peculiari. Presso il CNRB infatti è stato sviluppato già dal 1984 dopo la diagnosi del primo caso di b.i. da *C. butyricum* neurotossigeno, un programma ad hoc per lo studio delle forme infettive intestinali di botulismo. Questo ha portato alla raccolta di una notevole quantità di dati clinici, epidemiologici e microbiologici, all'approfondimento di diversi aspetti della malattia e all'evidenziazione di nuovi fattori di rischio e predisponenti. Questa relazione illustra le caratteristiche peculiari dell'epidemiologia italiana del botulismo infettivo intestinale sia nella forma infantile che dell'adulto.

## **P3 CHALLENGE TEST PER *ESCHERICHIA COLI* VEROCITOTOSSINOGENI IN CARNI MACINATE: UTILIZZO DELLA PCR *REAL-TIME***

Martino Barbanera, Raffaella Bergami, Claudio Mazzini, Sonia Scaramagli, Alessandra Stefan

*Laboratorio COOP ITALIA, Bologna*

I ceppi di *Escherichia coli* patogeni, detti STEC o VTEC, rappresentano una grave causa di infezioni di origine alimentare. La patogenicità di tali ceppi si esprime con due meccanismi diversi:

- attraverso la produzione di particolari tossine (dette Stx, *Shiga-toxins like*, o anche VT, Verocitotossine);
- attraverso un meccanismo invasivo mediato da una proteina di superficie, detta intimina.

I ceppi di *E. coli* responsabili di patologie enteriche sono classificati in diversi gruppi in base alle caratteristiche di virulenza, al meccanismo patogenico, alla sindrome clinica determinata e al sierogruppo O a cui appartengono. Tra i diversi VTEC, il sierotipo O157:H7 è stato il primo ad essere associato a malattie enteriche. Altri ceppi responsabili di patologie simili sono O26, O55, O145, O91, O111 e O103. L'identificazione dei ceppi patogeni di *E. coli* in alimenti può essere effettuata sia con metodi colturali (uso di terreni cromogeni o test immunoenzimatici), sia mediante analisi molecolari. L'obiettivo di tale lavoro è stato quello di valutare l'utilizzo e comparare la sensibilità del metodo molecolare (PCR *Real-time*) rispetto a quello immunoenzimatico. A tale scopo:

- è stata determinata la specificità di alcuni markers molecolari;
- è stato allestito un challenge test, inoculando dei campioni di carne bovina macinata con concentrazioni diverse di *E. coli* O157:H7 e rilevando la presenza batterica sia tramite PCR *Real-time* che mediante saggio VIDAS.

I risultati di questo lavoro indicano, per quanto riguarda le prove di specificità, che i markers molecolari utilizzati non mostrano cross-reattività tra i vari ceppi analizzati e, per quanto riguarda le prove di sensibilità, che il metodo molecolare (PCR *Real-time*) presenta una sensibilità almeno 5 volte superiore rispetto al metodo immunoenzimatico.

## **P4 PREVALENZA DI *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGENI (EPEC) ED ENTEROEMORRAGICI (EHEC) NEGLI ALLEVAMENTI BOVINI NEL LAZIO**

Antonio Battisti (a), Alessandra Di Egidio (a), Alessia Franco (a), Sarah Lovari (a), Valentina Donati (a), Gessica Cordaro (a), Paola Di Matteo (a), Luigi Sorbara (a), Tamara Cerci (a), Carmela Buccella (a), Roberta Onorati (a), Stefano Morabito (b)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

(b) Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nel corso del 2004 è stato condotto uno studio per stimare la prevalenza di *Escherichia coli* Enteropatogeni (EPEC) ed Enteroemorragici (EHEC) negli allevamenti bovini del Lazio. EPEC sono associati a diarrea non solo nell'uomo, ma anche nei ruminanti nei primi mesi di vita. EHEC sono responsabili di enteriti nell'uomo e gravi sequele (sindrome emolitico-uremica, PTP) in età infantile. Gli allevamenti sono stati selezionati secondo campionamento casuale semplice dall'anagrafe bovina della regione, che conta oltre 10.000 allevamenti, considerando una prevalenza attesa del 10% e una precisione assoluta del 5%. In ogni allevamento sono stati casualmente prelevati animali entro i tre mesi di vita, con numero massimo di 8 soggetti. I campioni sono stati composti in pool e sottoposti ad esame colturale (MacConkey agar, Agar Sangue), e le colture primarie a screening biomolecolare mediante PCR per il gene codificante l'intimina (gene *eae*), responsabile delle capacità di colonizzazione della parete intestinale. In caso di positività su coltura primaria, il test è stato ripetuto su pool colonie isolate in subcoltura. In caso di presenza del gene *eae*, gli isolati sono stati testati in PCR per la presenza di verocitossine (VT), e del gene dell'enteroemolisina (*E-hly*). Gli isolati *eae* e/o VT +ve sono stati saggati con sieri per gli antigeni somatici più frequenti in *E. coli* EPEC ed EHEC dei ruminanti. Tra le aziende comprese nello studio, è stata stimata una prevalenza di *E. coli eae*+ve in screening mediante PCR del 50,7% (72/142, CI 42,2-59,2%), a riprova che la circolazione di *E. coli* provvisti di tale fattore di virulenza sia relativamente frequente. Per la numerosità campionaria all'interno di ogni allevamento nella classe di età considerata, si stima che la prevalenza intraaziendale non sia inferiore al 30%. Al tentativo di ottenere singoli isolati *eae*+ve mediante subcoltura, sono risultate positive 9 aziende, (6,3%, CI 2,9-11,7%) sul totale degli allevamenti saggati. Tra i 9 isolati *eae*+ve, 5 possedevano anche i geni codificanti per VT (e 3 dei 5 anche il gene *E-hly*), (3,5%, CI 1,2-8,0%). È da notare che il dato di prevalenza è simile ai dati riportati in letteratura per gli EHEC (*E. coli* O157 e altri EHEC), ottenuti con metodiche colturali selettive e cromogeniche, previo tecniche di immunoseparazione magnetica. I dati scaturiti dallo studio sono promettenti in funzione di ulteriori studi di prevalenza che utilizzino screening delle colture primarie in PCR. A tale proposito, lo screening molecolare dimostrerebbe una sensibilità analitica e diagnostica almeno analoga a quella di altre metodiche. Inoltre tale approccio privilegia lo screening per fattori di virulenza e non per antigeni somatici o caratteristiche biochimiche degli isolati, con conseguenti vantaggi in termini di specificità (non elevata per EHEC non-O157), di ottimizzazione delle risorse e di efficienza del sistema. Tale approccio risulterebbe utile per esplorare il ruolo del bovino come carrier di *E. coli* EPEC e soprattutto di EHEC non-O157, responsabili in Italia di oltre il 60% delle infezioni da *E. coli* VTEC nell'Uomo.

## **EVOLUZIONE DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-NET ITALIA: LA RACCOLTA DATI ON LINE E L'INDIVIDUAZIONE RAPIDA DELLE ALLERTE**

Antonino Bella (a), Pasquale Galetta (b), Gruppo di coordinamento Enter-net Italia \*

(a) *Centro Nazionale di Epidemiologia Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

In Italia il sistema di sorveglianza Enter-net ha subito una costante evoluzione nel corso degli anni; da un flusso cartaceo si è passati alla realizzazione di un software per la raccolta dati utilizzando per la trasmissione prima il supporto magnetico e successivamente la posta elettronica. Le criticità nell'attuale sistema risiedono principalmente nella sensibilità e nella tempestività del flusso dei dati. Per migliorare la sensibilità si sta cercando di aumentare il numero di laboratori periferici afferenti alla rete e di aumentare e migliorare l'attitudine alla segnalazione per quei centri che già fanno parte della rete. Per migliorare la tempestività del flusso dei dati, l'Istituto Superiore di Sanità ha sviluppato un'applicazione Web per la raccolta on-line dei dati. Questo nuovo sistema di raccolta dei dati azzerà sia i tempi di trasmissione dei dati agli organi centrali sia quelli per l'elaborazione a livello centrale rendendoli disponibili, a livello locale, in tempo reale. La procedura, sviluppata nel linguaggio Asp.net, si interfaccia con un database SQL e permette un accesso differenziato per tipo di utente attraverso un login. Gli accessi per ora sono disponibili a livello di laboratorio regionale e di Istituto Superiore di Sanità, ma la procedura è stata progettata per consentire anche l'inserimento a livello di laboratorio periferico. A novembre 2005 partirà la fase pilota della procedura che coinvolgerà alcuni laboratori regionali. Parallelamente si sta realizzando un algoritmo che consenta la rilevazione rapida delle allerte epidemiche. Esistono numerosi metodi in letteratura ma tutti hanno in comune la finalità di evidenziare anche piccole deviazioni dall'atteso. Noi stiamo utilizzando il metodo delle carte di controllo denominato *Cumulative Sum* (CuSum) e il metodo usato dai *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). Le carte di controllo sono essenzialmente rappresentazioni grafiche di un processo nel tempo. Esistono vari tipi di carte ma quella CuSum, proprio perché utilizza le informazioni di tutti gli elementi precedenti, è in grado di individuare scostamenti del processo in modo più efficace delle altre. Il metodo del CDC o metodo dei "limiti storici" confronta il numero di casi segnalati in una definita finestra temporale del corrente anno con quelli attesi calcolati sui 5 anni precedenti relativamente allo stesso periodo.

\* *Ida Luzzi, Alfredo Caprioli, Marta Luisa Ciofi degli Atti, Gaia Scavia, Susanna Lana*

## **PREVALENZA DI SALMONELLA SPP. ED E. COLI O157 NELLA FILIERA SUINA**

Daniela Manila Bianchi (a), Bruno Sona (b), Vilma Sperone (a), Manuela Belvedere (a), Giovanni Pezzotti (c), Lucia Decastelli (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

(b) Servizio Veterinario ASL 17/1 Regione Piemonte, Saluzzo, Cuneo

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Perugia

*Salmonella spp.* è uno dei maggiori responsabili di malattie alimentari e la filiera suina è una delle più frequentemente coinvolte: i suini portatori del patogeno avviati alla macellazione sono, infatti, la fonte di contaminazione delle carcasse e prodotti derivati. Il lavoro ha voluto studiarne la prevalenza prelevando campioni di feci dagli stessi gruppi di suini sia in allevamento che al momento della macellazione. Parallelamente si è condotta una ricerca per valutare la presenza di *E. coli* O157, patogeno naturalmente albergato nel tratto gastroenterico dei ruminanti, ma solo raramente isolato nel suino. Sono stati campionati 13 allevamenti suini nel territorio dell'ASL 17 piemontese. Si sono analizzati 193 campioni di feci rappresentativi di singoli box di animali e prelevati in un numero variabile a seconda delle dimensioni delle aziende. Durante le sedute di macellazione sono stati prelevati 15 campioni per ogni allevamento (in totale 195 campioni provenienti dai macelli). Le analisi sono state effettuate presso il Laboratorio Controllo Alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta seguendo i metodi AFNOR V08-052 per *Salmonella* e AFNOR BIO 12/8-07/00 per *E. coli* O157. Per quanto riguarda *Salmonella spp.*, la prevalenza ottenuta in allevamento è circa del 30% (4 allevamenti su 13): le prevalenze intrallevamento sono variabili e mostrano valori di 6,25% (1 box su 16) in due aziende, 12,5% (1 su 8), 25% (4 su 16). Al macello, la positività risulta 38,5% (5 allevamenti su 13), la prevalenza intrallevamento compresa tra 6,6 e 40%. Le sierotipizzazioni (Schema Kauffmann-White), hanno permesso di identificare, negli allevamenti, ceppi di *S. typhimurium*, *S. galiema* e di 4,5,12:i:-. Dai campioni prelevati al macello si sono isolati i sierotipi: *Derby*, *Anatum*, *Panama*, e 4,5,12:i:-. All'interno di ciascun allevamento non sono stati isolati sierotipi diversi, mentre questa evenienza si è verificata in due casi al macello. Gli antibiogrammi hanno evidenziato pattern di resistenza multipli relativi soprattutto a molecole quali Streptomicina, Sulfametazolo e Trimethoprim, Tetraciclina, Triplesulfa. Per quanto riguarda *E. coli* O157, in nessun caso si è isolato il patogeno dai campioni analizzati. I nostri risultati ricalcano quelli esistenti in bibliografia; per *Salmonella spp.* la prevalenza ottenuta al macello e l'isolamento di sierotipi diversi in questi campioni, suggerisce la probabile contaminazione degli animali in momenti diversi quali il trasporto o l'attesa pre-macellazione. I risultati degli antibiogrammi inoltre, sottolineano la necessità di un uso controllato del farmaco in allevamento.

## **P6 MONITORAGGIO DI *CAMPYLOBACTER COLI* NELLE GALLINE OVAIOLE NEL CORSO DEL CICLO DI ALLEVAMENTO**

Antonio Camarda (a), Anna Maria Dionisi (b), Elena Circella (a), Alessandra Carattoli (b), Gerardo Manfreda (c), Alessandra De Cesare (c), Renzo Mioni (d), Antonia Ricci (d)

(a) *DISBA, Sezione Patologia Aviare, Università degli Studi di Bari*

(b) *Dipartimento Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Alma Mater Studiorum, Bologna*

(d) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

Centoundici stipiti di *Campylobacter coli* isolati nel corso del ciclo di produzione di galline ovaiole di 3 diversi allevamenti sono stati tipizzati mediante PCR-RFLP della flagellina A (*flaA*) e sequenza del gene della DNA girasi (*gyrA*). I campionamenti sono stati eseguiti con cadenza trimestrale mediante tamponi cloacali a partire dal giorno dell'accasamento e si sono protratti per 12 mesi. Il primo campionamento, effettuato in tutti i gruppi su pulcini di una settimana di vita, ha dato esito negativo. Tutti gli allevamenti sono invece risultati positivi nei campionamenti successivi. Sono stati riscontrati 11 diversi *flaA*-tipi. In particolare nell'allevamento 1 sono stati individuati 5 diversi *flaA*-tipi (A, C, D, E, F) con predominanza del profilo C; nella azienda 2, 4 *flaA*-tipi (C, D, E, R) con predominanza del profilo R e nell'azienda 3, 8 *flaA*-tipi (A, B, D, F, H, L, M, O) con predominanza del profilo F. Alcuni di questi polimorfismi del gene *flaA*, risultavano esclusivi di un allevamento, altri invece erano comuni a due delle tre aziende considerate. Tra tutti, il profilo D è risultato sempre presente in tutti i gruppi considerati durante il ciclo di produzione e la sua permanenza nel tempo potrebbe indicarlo come un ceppo prevalente in questa determinata area geografica. Un gruppo di *C. coli* è stato anche analizzato mediante PCR e sequenziamento del gene *gyrA*. Tutti, ad eccezione di un solo stipite riscontrato nell'azienda 3, mostravano mutazioni identiche tra loro (ai codoni 39, 86, 99 e 157), suggerendo un'origine clonale per questi ceppi. È da notare che la mutazione sul codone 86 conferisce livelli elevati di resistenza ai fluorochinoloni. Il ceppo con sequenza diversa, anch'esso resistente ai fluorochinoloni, mostrava mutazioni non precedentemente descritte per la DNA *gyrA* di *C. coli* (ai codoni 39, 50, 51, 86, 99, 157). Il nostro studio conferma la diffusione di *C. coli* all'interno degli allevamenti di galline ovaiole. Il mancato isolamento del germe suggerirebbe una prevalente trasmissione orizzontale degli stipiti successiva all'accasamento. Le indagini molecolari mostrano diversa capacità discriminatoria dei metodi usati. L'analisi per PCR-RFLP del gene *flaA* sembra un metodo molto sensibile per individuare le sottopopolazioni circolanti nell'allevamento. L'esame del gene *gyrA* dimostra però una comune origine degli isolati, probabilmente in continua evoluzione durante la colonizzazione animale. Su tutti i ceppi verrà applicato un terzo metodo di tipizzazione (PFGE) per determinare l'effettiva distanza genetica tra i ceppi circolanti. A dispetto dell'elevata sensibilità del metodo, l'esame dei *flaA*-tipi ha permesso di individuare nell'ambito di ogni allevamento una popolazione dominante, alla quale durante il corso del tempo si sono aggiunti stipiti con profilo differente. La capacità di colonizzare

gli animali e l'ambiente manifestata da alcuni gruppi clonali di *Campylobacter* potrebbe essere legata alle potenzialità di questi stipiti di contaminare i prodotti avicoli lungo la catena alimentare.

*Lavoro finanziato dal Ministero della Salute, Ricerca corrente 2001 (Progetto IZSVE 10/2001)*

## **P7 VIRUS DELL'EPATITE E: INDAGINE PRELIMINARE SULLA PRESENZA IN ALLEVAMENTI DI SUINI IN ITALIA**

Andrea Caprioli (a), Francesca Martelli (a), Fabio Ostanello (a), Ilaria Di Bartolo (b), Franco Ruggeri (b), Livio Del Chiaro (c), Francesco Tolari (c)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università degli Studi di Bologna*

(b) *Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi e Igiene degli Alimenti, Università degli Studi di Pisa*

L'epatite E costituisce un grave problema di Sanità Pubblica in molti paesi in via di sviluppo. L'agente eziologico è un RNA virus di piccole dimensioni attualmente classificato nel genere *Hepevirus*. La malattia si trasmette principalmente per via oro-fecale attraverso il consumo di acqua o alimenti contaminati. Nei paesi industrializzati, i casi sono sporadici ma la sieroprevalenza in individui sani può essere elevata. Attualmente, HEV è considerato un agente di zoonosi emergente e il suino è ritenuto un serbatoio del virus. In Giappone, casi di epatite E sono stati associati all'ingestione di carni crude di suino, cinghiale e cervo. Il presente lavoro ha come obiettivo la valutazione della presenza di HEV negli allevamenti suini italiani. Trentaquattro pool di feci e 22 campioni di siero sono stati raccolti da 5 allevamenti del nord-centro Italia. I campioni provenivano da animali clinicamente sani di 2-5 mesi di età. La ricerca del genoma virale è stata effettuata mediante una nested-RT-PCR che utilizza primers degenerati localizzati nella regione ORF2 di HEV. Gli amplificati (145 bp) sono stati visualizzati in gel di agarosio e i prodotti positivi sono stati sequenziati. Il genoma di HEV è stato evidenziato in 2 pool fecali ottenuti da gruppi di animali di 4,5 e 2,5 mesi in 2 aziende diverse. Tutti i campioni di siero sono risultati negativi. L'analisi filogenetica delle sequenze virali, denominate HEVBO/01 e HEVPI/01, ha dimostrato l'appartenenza di entrambi i ceppi al genotipo 3 di HEV, cui appartengono tutti i ceppi indigeni suini e umani identificati in Europa. I 2 ceppi differivano sensibilmente l'uno dall'altro, mostrando identità nucleotidica dell'84%. Entrambi i ceppi possono comunque essere raggruppati con ceppi evidenziati in altri paesi industrializzati. In particolare, HEVPI/01 è risultato correlato (90% di identità nucleotidica) ad un ceppo umano (AY540113) evidenziato in un caso autoctono di epatite E in Spagna. Questo lavoro dimostra la presenza di HEV negli allevamenti suini italiani e conferma che il virus è presente in suini clinicamente sani. Questo desta preoccupazione per le possibili implicazioni di Sanità Pubblica legate ai potenziali rischi di infezione mediante contatto con suini infetti o ingestione di carne o organi contaminati. Questa eventualità, almeno nel nostro paese, è tuttavia resa poco probabile dal fatto che il virus è inattivato dai normali procedimenti di cottura e sembra essere presente in suini con meno di 5 mesi di vita, quindi al di sotto dell'età di macellazione. Occorre tuttavia ricordare la possibilità di contaminazione crociata tra prodotti carnei crudi e altri alimenti pronti per il consumo e il rischio di diffusione del virus nell'ambiente con i reflui di allevamenti suini. Al momento sono in corso ulteriori studi per valutare la prevalenza dell'infezione in suini italiani e per capire se, anche in Italia, esiste un rischio di trasmissione zoonosica dell'HEV.

## **P8 SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI *IN VITRO* E RICERCA DEI GENI RESPONSABILI DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN CEPPI DI *SALMONELLA* ISOLATI DA ALIMENTI, MANGIMI E ANIMALI**

Maria Rosaria Carullo, Anna Giannina Perugini, Giovannina Giuliano, Mario Bartoli,  
Vincenzo Caligiuri, Federico Capuano  
*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli*

La diffusione dei geni che conferiscono resistenza agli antimicrobici costituisce oggi un problema di crescente interesse nelle patologie infettive. In questo lavoro è stata valutata la sensibilità *in vitro*, mediante il metodo di diffusione su piastra, verso diversi antibiotici usati in medicina veterinaria e umana, di 89 ceppi di *Salmonella* isolati in Campania e Calabria da novembre 2004 ad agosto 2005 a partire da mangimi, alimenti vari, organi e tamponi di origine animale. Su tutti gli isolati è stata eseguita una multiplex PCR (mPCR) per amplificare, oltre ad un gene specifico del genere *Salmonella*, anche i geni di resistenza PSE-1, TEM, *cmlA/tetR*. Inoltre, mediante 3 ulteriori saggi di PCR, è stata valutata anche la presenza dei geni *sul1*, *sul2* e *sul3*, in grado di conferire resistenza ai sulfamidici. Degli 89 ceppi analizzati, 87 appartengono alla sottospecie *Enterica* e di questi il 35,6% risultano essere *Typhimurium*, il 5,75% *Derby* e, rispettivamente, il 4,6% *London*, *Livingstone*, *Anatum*, *Enteritidis*, *Infantis*. Tutti i ceppi isolati risultano resistenti *in vitro* al cloramfenicolo e alla streptomina, il 96,6% è resistente alla neomicina, l'89,9% alla kanamicina, il 76,4% alla tetraciclina e ai sulfamidici, il 69,7% alla cefalotina il 53,9% alla gentamicina, il 46,1% all'acido nalidixico e il 33,7% all'ampicillina. Tra gli isolati è stato possibile rilevare la presenza di molteplici ceppi caratterizzati da resistenze multiple, infatti dei 19 isolati da organi 8 risultano resistenti ad almeno 6 delle molecole testate, dei 51 ceppi isolati da alimenti destinati al consumo umano, 20 ad almeno 6, e dei 6 ceppi isolati da mangimi 5 risultano resistenti ad almeno due antimicrobici. Dei ceppi isolati da animali 8 risultano resistenti all'ampicillina e di questi 4 sono positivi per uno dei due geni di resistenza cercati (PSE-1 o TEM), mentre un solo ceppo li presenta entrambi. Tra tali ceppi, inoltre, 15 risultano resistenti ai sulfamidici, di cui 3 per *sul1* e 4 per *sul2*. Tra i ceppi isolati da matrici alimentari, 17 sono resistenti *in vitro* all'ampicillina; di questi 2 risultano portatori di entrambi i geni di resistenza, 6 solo per PSE-1 e 13 solo per TEM. Dei ceppi suddetti, inoltre, 41 risultano resistenti ai sulfamidici, e tra questi oltre ad essere presenti dei positivi per *sul1* (9) o *sul2* (9), sono stati identificati anche tre ceppi positivi per il gene *sul3*. Dei ceppi di *Salmonella* resistenti *in vitro* a cloramfenicolo e tetraciclina, infine, solo 17 sono positivi per l'amplicone *cmlA/tetR*.

# MONITORAGGIO E CARATTERIZZAZIONE DI ENTEROBATTERI PRODUTTORI DI ESBLs (EXTENDED-SPECTRUM- $\beta$ -LACTAMASES): RISULTATI DI SEI MESI DI SORVEGLIANZA NELLA DIAGNOSTICA VETERINARIA

Giuseppina Chiaretto (a), Roberto Perin (b), Francesca Bettini (c), Adelaide Dilani (c),  
Michela Corrò (b) e Antonia Ricci (a)

(a) Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
delle Venezie, Legnaro, Padova

(b) Laboratorio di Microbiologia Diagnostica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle  
Venezie, Legnaro, Padova

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

La produzione di  $\beta$ -lattamasi è il principale meccanismo di resistenza verso gli antibiotici  $\beta$ -lattamici nei batteri gram-negativi. I principali tipi di ESBLs (Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamases) che si possono trovare nelle *Enterobacteriaceae* sono mutanti puntiformi delle  $\beta$ -lattamasi TEM-1, TEM-2 e SHV-1, enzimi codificati da plasmidi ampiamente diffusi negli enterobatteri. A partire dagli anni '80 hanno fatto la loro comparsa enzimi diversi, tra cui le  $\beta$ -lattamasi di tipo CTX-M, anch'essi codificati da plasmidi. In Italia, numerosi studi dimostrano l'aumento della prevalenza di batteri ESBL-produttori in isolati clinici umani, fenomeno che desta notevole preoccupazione dal punto di vista clinico e terapeutico. Gli antibiotici  $\beta$ -lattamici non sono considerati farmaci d'elezione nella terapia degli animali da reddito e il contributo dell'uso di queste molecole nell'indurre livelli di resistenza mediata da  $\beta$ -lattamasi negli isolati animali è ancora di difficile interpretazione. Lo scopo del presente studio è stato quello di stimare la prevalenza di enterobatteri produttori di ESBL in campioni di origine animale e caratterizzare i determinanti genetici di resistenza dei ceppi positivi per il fenotipo ESBL. Più di 500 ceppi di *Enterobacteriaceae*, isolati a partire da maggio 2005 da campioni clinici di diversa origine e specie animale presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie sono stati sottoposti a test di sensibilità agli antibiotici (Kirby-Bauer) e saggiati con il test di sinergia del doppio disco per la rilevazione del fenotipo ESBL. I ceppi risultati positivi al primo saggio sono stati confermati mediante il sistema quantitativo E-test, specifico per lo screening dei ceppi ESBL produttori. A livello molecolare, la positività è stata confermata mediante PCR per l'identificazione dei geni  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{SHV}$ ,  $bla_{OXA}$  e  $bla_{CTX-M}$  e gli amplificati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi di sequenziamento. Le indagini svolte hanno consentito di identificare 6 isolati positivi per il fenotipo ESBL: una *Salmonella enterica* isolata da tessuti di pollo e cinque *E. coli* di diversa origine (bovino, pollo e cane). Lo stipite di *Salmonella* e un ceppo di *E. coli* sono risultati positivi alla PCR  $bla_{SHV}$ , mentre i rimanenti ceppi di *E. coli* sono risultati positivi alla PCR per i geni CTX-M. L'analisi di sequenziamento ha permesso di confermare la specificità dei prodotti di PCR mediante il confronto con le sequenze geniche depositate in GeneBank. Le osservazioni emerse da questo studio confermano l'importanza di monitorare gli isolati ESBL-produttori di origine animale sia a fini clinici che epidemiologici.

## **P9** TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI HAV IN MOLLUSCHI BIVALVI ANALIZZATI MEDIANTE *REAL-TIME* PCR

Maria Chironna, Anna Sallustio, Salvatore Barbuti, Michele Quarto  
*Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica, Sezione di Igiene, Università degli Studi di Bari*

Il consumo di molluschi bivalvi rappresenta il principale fattore di rischio per epatite A in Italia e in particolare in Puglia. In assenza di specifici controlli microbiologici, questi alimenti di largo consumo continuano a rappresentare un veicolo di infezione molto temuto per infezioni a trasmissione enterica. Obiettivo dello studio è stato quello di determinare e quantificare mediante *Real-time* PCR la presenza di HAV-RNA in campioni di molluschi bivalvi destinati al consumo umano collezionati nel 2000-2001 e sottoposti a screening per la presenza qualitativa di HAV mediante nested RT-PCR. Inoltre, i ceppi dei campioni risultati positivi sono stati caratterizzati mediante analisi delle sequenze nucleotidiche delle regioni VP3-VP1 e VP1-P2A. Sette dei 53 campioni risultati positivi in nested RT-PCR sono stati analizzati mediante one step *Real-time* PCR (*Light Cycler, Roche Diagnostics*). L'RNA virale è stato estratto e purificato (previa aggiunta di un controllo interno di estrazione) a partire da aliquote di 10 gr di omogenato sottoposto a eluizione con tampone glicina e doppia precipitazione con polietilenglicole. Cinque microlitri di RNA sono stati utilizzati nella reazione di retrotrascrizione/amplificazione in un volume finale di 20  $\mu$ l. Gli standard utilizzati hanno consentito la quantificazione dell'RNA virale in un range di linearità compreso tra  $10^2$  e  $10^6$  copie/reazione. I campioni analizzati, tutti risultati positivi, hanno mostrato una quantità media di genomi virali di 1537,2/gr di omogenato (range 84-4734 copie/gr). L'analisi delle sequenze nucleotidiche nelle regioni di giunzione ha permesso di verificare in 6 campioni la presenza di ceppi di genotipo IB e in un campione la presenza di genotipo IA. Dall'analisi filogenetica nella regione VP1-P2A è emerso che il ceppo IA formava un cluster con dei ceppi IA precedentemente caratterizzati in Puglia (IT-CAP-00, AJ505563) e associati a casi sporadici di epatite A acuta da consumo crudo di frutti di mare mentre i ceppi IB clusterizzavano con dei ceppi IB isolati nel corso di un focolaio epidemico di epatite A associato ad alimentarista verificatosi nella regione Puglia nel 2002 (IT-MAR-02, AY294047). Dall'analisi dei fattori di rischio, il caso indice di questo focolaio aveva presumibilmente contratto l'infezione a seguito del consumo crudo di molluschi bivalvi durante un banchetto. In conclusione, la *Real-time* PCR per HAV si è rivelata utile per la determinazione e quantificazione dell'HAV-RNA in molluschi bivalvi consentendo la disponibilità dei risultati in meno di 60 minuti. La tipizzazione molecolare dei ceppi di HAV ha permesso, infine, di confermare la stretta relazione esistente tra consumo di molluschi bivalvi e casi di epatite A acuta nella regione Puglia come emerso da numerosi studi caso-controllo.

## ISOLAMENTI DI *SALMONELLA SPP.* DA FONTI AMBIENTALI IN ITALIA NEL 2004

Giuseppe Cirillo (a), Francesco Ortali (b), Daniela Caroli (c), Giuseppe Mercati (d), Marina Molina (e), Ludwig Moroder (f), Annamaria Manuppella (g), Pasquale Galetta (h)

(a) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Emilia Romagna, Forlì

(b) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente, Forlì/Cesena

(c) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Piemonte, Grugliasco, Torino

(d) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Lazio, Roma

(e) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Liguria, Genova

(f) Agenzia Provinciale Protezione e Ambiente, Bolzano

(g) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Molise, Isernia

(h) Dipartimento Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nell'ambito del progetto Enter-net, la ricerca di *Salmonella spp.* nell'ambiente è generalmente effettuata dalle Agenzie Regionali di Prevenzione Ambientale, ma non tutte le Regioni svolgono questo tipo di attività analitiche anche a causa delle differenti competenze sviluppate. Centri di Riferimento Regionali sono stati costituiti in Piemonte, Liguria, Provincia Autonoma di Bolzano, Emilia-Romagna, Molise, Lazio. Quest'anno la rete si è ampliata con l'apporto del Veneto, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Toscana, Marche, Abruzzo, Sicilia, Sardegna e APPA Trento. Nell'anno 2004, i Laboratori sopra indicati, hanno isolato e tipizzato 2.843 ceppi di cui 2.428 da matrice ambientale, 51 da matrice alimentare e 339 da matrice umana. Dei 2.428 ceppi ambientali, 1947 (68,50%) provengono da acque superficiali (fiumi, laghi, mare, acque reflue) 291 (10,24%) da acque di scarico, 433 (15,22%) da fanghi di depurazione 172 (6,04%) da altre fonti. Negli isolamenti da matrici ambientali sono stati osservati 149 sierotipi (specie) diversi con prevalenza dei Gruppi B/C/D/E/F. I primi dieci sierotipi sono stati *S. typhimurium* 416 (17,1%), *S. veneziana* 260 (10,7%), *S. infantis* 229 (9,5%), *S. derby* 152 (6,2%), *S. London* 105 (4,2%), *S. livingstone* 92 (3,7%), *S. enteritidis* 72 (2,9%), *S. muenchen* 71 (2,9%), *S. anatum* 67 (2,7%), *S. agona* 59 (2,4%). I primi dieci sierotipi detengono il 62,3% del totale degli isolamenti. *S. veneziana* risulta rara tra i ceppi isolati dall'uomo e dagli alimenti mentre gli altri nove sierotipi sono tutti tra quelli più frequenti nelle infezioni umane. *S. enteritidis*, isolata dal 34,2% delle infezioni umane, rappresenta solo il 2,9% degli isolamenti ambientali. A differenza degli stipiti umani, nell'ambito dei quali i due sierotipi più frequenti (*S. typhimurium* e *S. enteritidis*) rappresentano circa il 75,8% dei totali, i due sierotipi più diffusi tra gli isolati ambientali (*S. typhimurium* e *S. veneziana*) sono solo il 27,8 % del totale. L'elevata variabilità di sierotipi tra gli isolati ambientali può essere dovuta all'esistenza di differenti e numerosi serbatoi naturali, dagli animali da allevamento alle specie selvatiche. È indubbio che solo alcuni sierotipi parassitano uomo e animali diventando agenti di tossinfezioni. La conoscenza di quanto accade anche nelle matrici ambientali, che sono poi strettamente correlate alle attività umane, serve però a completare la visione del movimento profondo di questo microorganismo. La costituzione di una rete dedicata di sorveglianza ambientale potrebbe garantire una miglior copertura del territorio e la disponibilità di dati più accurati consentendo di valutare meglio il ruolo che l'ambiente gioca nella trasmissione dei patogeni enterici all'uomo.

## INFEZIONI GASTROENTERICHE UMANE CAUSATE DA PROTOZOI: LA NOSTRA ESPERIENZA

Maria Letizia D'Annibale (a), Daniele Crotti (b)

(a) *Struttura Complessa di Microbiologia; Azienda Ospedaliera di Perugia*

(b) *Libero Professionista in Parassitologia e Microbiologia Medica, Perugia*

In Italia le protozosi intestinali sembrano essere assai rare, data anche la scarsa attenzione al problema. Soltanto *G. duodenalis* è talora segnalata. Scopo del lavoro è definire, quantomeno nella realtà perugina, tale stato di cose, sulla base della nostra esperienza professionale. Nel corso del 2002-03 abbiamo analizzato le feci (1 o più campioni) di 1.989 soggetti (966 bambini e 1023 adulti): 380 bambini e 656 adulti per disturbi intestinali vari, 546 bambini e 291 adulti con diarrea acuta, 40 bambini e 76 adulti con diarrea protratta. Sono stati eseguiti: esame microscopico diretto e dopo arricchimento formolo-etilacetato, colorazione di Giemsa (in rare circostanze anche la colorazione tricromica); per *Cryptosporidium spp.* è stata eseguita la colorazione con merbromina (in caso seguita da colorazione Ziehl-Neelsen a freddo, dopo congrua concentrazione) o immunofluorescenza specifica. *G. duodenalis* è stata osservata nell'1,8% dei soggetti (0,2% tra i bambini e 3,2% tra gli adulti), *D. fragilis* nel 4,1% dei soggetti (0,6% e 7,3% rispettivamente). Altri protozoi patogeni non furono mai rinvenuti. Nei soggetti con disturbi intestinali aspecifici queste furono le prevalenze: *G. duodenalis* del 3,7% e *D. fragilis* dell'8,7% negli adulti (0,5%, entrambe, nei bambini); nei soggetti con diarrea acuta: *G. duodenalis* dell'1,7% e *D. fragilis* del 4,5% negli adulti (0% e 0,4% nei bambini); nei soggetti con diarrea prolungata oltre i 14 giorni: *G. duodenalis* del 5,3% e *D. fragilis* del 6,6% negli adulti (0% e 5,0% nei bambini). I protozoi patogeni presenti sono soltanto *G. duodenalis* e *D. fragilis*, soprattutto negli adulti. *D. fragilis* è più frequente di *G. duodenalis*. Ne consegue che entrambe vanno sempre ricercate con dovizia; si raccomanda così di eseguire sempre, quando necessario, la colorazione di Giemsa (meglio se su almeno 3 campioni nei soggetti con disturbi intestinali vari e aspecifici).

## **P10 SALSICCIA SUINA: ISOLAMENTO DI SALMONELLA SPP. E SIEROTIPIZZAZIONE**

Lucia Decastelli, Antonio Barbaro, Francesca Rubinetti, Silvia Gallina, Laura Chiavacci  
*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

Come riportato in bibliografia il suino è considerato un importante fonte di contaminazione di *Salmonella spp.* e i prodotti da esso derivati sono spesso implicati in epidemie di salmonellosi umana. Negli Stati Uniti diversi studi hanno dimostrato che la contaminazione dei prodotti derivati dal suino può raggiungere il 4,4%: particolarmente interessati sono la carne fresca, refrigerata e lavorata. Nel suino *Salmonella spp.* è presente a livello delle tonsille (15%), della carcassa (8%) e del fegato/diaframma (17%). Il Regolamento CE n. 2160/2003 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 novembre 2003 “Sul controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti” stabilisce che devono essere fissati obiettivi comunitari di riduzione della prevalenza per tutti i sierotipi di *Salmonella* “... rilevanti per la sanità pubblica” secondo quanto stabilito dall’allegato III. Tra le categorie produttive sottoposte a controllo il Regolamento CE 2160/2003 nomina anche “... i suini destinati alla produzione di carne”. Per tale motivo oggetto del nostro lavoro è stato quello di descrivere la presenza di *Salmonella spp.* nelle salsicce fresche suine prodotte in Piemonte; tale alimento, infatti, per le sue caratteristiche di produzione e consumo può rappresentare, se contaminato, un reale rischio per il consumatore. Da aprile 2005 sono stati analizzati, quindi, 78 campioni di salsiccia fresca suina proveniente da 27 differenti attività. Utilizzando le comuni tecniche di microbiologia sono risultati positivi 18 campioni, pari al 23,08%. Tutti i ceppi isolati sono stati sierotipizzati secondo quanto previsto dallo schema Kauffmann-White, utilizzando anticorpi policlonali e monoclonali. I risultati delle tipizzazioni hanno evidenziato come *S. derby*, isolato nel 50% (n=9) dei campioni positivi, sia il sierotipo maggiormente coinvolto. Nel 22,22% (n=4) degli isolati è stato possibile evidenziare *S. typhimurium*, mentre *S. London* era presente nel 11,11% dei campioni (n=2). Le tre positività rimanenti sono riconducibili a *S. Livingstone*, *S. Bredeney* e *S. anatum*, con percentuali pari a 5,56% ciascuno. Le positività ottenute evidenziano come la salsiccia fresca possa rientrare tra gli alimenti a rischio; per tale motivo risulta indispensabile il controllo lungo tutta la fase di produzione. Il controllo integrato di filiera può giocare un ruolo cardine in ambito di sanità pubblica per limitare la diffusione di zoonosi.

## **P11 SIEROTIPI DI SALMONELLA ISOLATI IN PIEMONTE NEL 2004**

Lucia Decastelli (a), Vesselina Kroumova (b), Silvia Gallina (a), Ilaria Crespi (b), Vilma Sperone (a), Stefania Grasso (b), Giacomo Fortina (b)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

(b) Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedale Maggiore della Carità, Novara

*Salmonella spp.* è una delle principali cause di malattie alimentari nell'uomo e lo studio dei sierotipi coinvolti può dare importanti informazioni sulla diffusione e distribuzione del patogeno. Per tale motivo lo studio si propone di confrontare le sierotipizzazioni effettuate presso il Laboratorio di Riferimento regionale nell'ambito della rete Enter-vet (Laboratorio Controllo Alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta) su campioni isolati da alimenti e quelle ottenute, da matrici umane, dal Centro di Riferimento della Regione Piemonte per la Tipizzazione delle Salmonelle istituito presso l'Ospedale Maggiore di Novara nell'anno 2001. Le salmonelle, isolate con le normali metodiche routinarie, sono state sierotipizzate utilizzando anticorpi poli- e monoclonali secondo lo schema Kauffmann-White. Presso il Laboratorio Controllo Alimenti sono stati tipizzati 219 ceppi di *Salmonella spp.* isolati da campioni di alimenti e da campioni di origine animale. Per quanto attiene ai primi *S. enteritidis* e *S. typhimurium* si presentano prevalenze simili, rispettivamente del 16,78% e del 16,08%; gli altri sierotipi, invece, non fanno mai registrare prevalenze superiori al 5%. Gli alimenti più a rischio sono rappresentati da quelli di origine avicola (32,87%), suina (24,48%) e dalle uova (14,69%). Sulle matrici di origine animale, invece, risulta chiara la predominanza di *S. typhimurium* (31,58%), seguita da *S. derby* (17,11%); le specie animali maggiormente implicate sono i suini (48,68%) e i volatili (13,16%). Presso il centro di riferimento in umana sono stati tipizzati, nel 2004, 683 ceppi: *S.* risulta essere il sierotipo maggiormente presente (40,56%), seguito da *S. enteritidis* (30,60%). Anche in questo caso gli altri sierotipi isolati non presentano prevalenze superiori al 5%; tra questi ritroviamo *S. derby* (3,82%), *S. infantis* e *S. muenchen* (2,05%). Dall'analisi dei dati risulta chiaro come, sia in ambito alimentare sia in ambito umano, *S. enteritidis* e *S. typhimurium* siano i sierotipi maggiormente coinvolti: tale dato conferma il passaggio del patogeno dagli animali all'uomo attraverso l'uso di alimenti contaminati. Dallo studio condotto, quindi, si evince l'importanza di strumenti di controllo e programmi di sorveglianza epidemiologici finalizzati al controllo dell'intera filiera produttiva. Le informazioni ottenute dal confronto tra ceppi isolati da alimenti, da animali e dall'uomo permettono di effettuare valutazioni indispensabili per poter correttamente orientare i piani di vigilanza e per l'introduzione di appropriati interventi di sanità pubblica.

## **P12** INDAGINE SULLA PRESENZA DI *ESCHERICHIA COLI* O157 IN PRODOTTI CARNEI

Anna Maria Di Noto (a), Antonella Costa (a), Cinzia Cardamone (a), Enza Maria Russo Alesi (a), Giuseppina Oliveri (a), Caterina Mammì (b)

(a) Istituto Zooprofilattico della Sicilia, Palermo

(b) Dipartimento Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo

Studi condotti in diverse regioni italiane sulla presenza di *Escherichia coli* O157 nei prodotti carnei mostrano una frequenza di isolamento molto bassa (0,4-0,8%). Scopo della nostra ricerca è stato quello di valutare l'eventuale presenza di questo microrganismo nelle carni provenienti da esercizi commerciali, macelli e depositi della provincia di Palermo. Inoltre, è stata eseguita una comparazione tra la metodica di isolamento ISO 16654:2001 e il metodo VIDAS ECO. L'indagine si è svolta da Gennaio 2004 a Settembre 2005 su un totale di 229 campioni, le cui tipologie sono le seguenti: 57 diaframmi di bovini locali prelevati in fase di macellazione, 35 muscoli bovini di cui 2 di provenienza francese, 22 carni macinate bovine provenienti da bovini italiani, 32 polli tutti di nazionalità italiana, 31 salsicce di provenienza italiana, 52 muscoli suini di cui 33 di provenienza italiana, 8 di provenienza tedesca, 5 di provenienza olandese, 5 di provenienza francese e 1 di provenienza spagnola. Tutti i campioni analizzati hanno dato esito negativo per *Escherichia coli* O157. Questo dato, anche se riferito ad un numero relativamente piccolo di campioni, conferma quanto riferito in letteratura circa la bassa prevalenza del microrganismo in questi prodotti in Italia. Inoltre, i due differenti metodi utilizzati hanno fornito risultati del tutto sovrapponibili, confermando la validità del metodo VIDAS ECO, più rapido rispetto al metodo batteriologico classico, come test di screening.

## **CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI SALMONELLA SIEROTIPO NAPOLI**

Anna Maria Dionisi, Emma Filetici, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Pasquale Galetta,  
Slamowir Owczarek, Ida Luzzi, Partecipanti alla rete Enter-net

*Dipartimento di Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di  
Sanità, Roma*

*Salmonella Napoli* ha rappresentato nel corso degli anni un sierotipo piuttosto raro. Negli ultimi quattro anni tuttavia il sistema Enter-net Italia ha registrato un aumento di questo sierotipo in casi di infezione e da fonti ambientali (acqua superficiale). La maggior parte degli isolamenti è stata registrata in Lombardia in particolare nella provincia di Varese. Un incremento nella frequenza di isolamento è stata osservato anche in altri Paesi europei e in particolare in Svizzera in una zona al confine con la Lombardia bagnata dal Lago Maggiore. Sia in Italia che in Europa si è osservato un andamento stagionale con un picco di isolamenti nei mesi di luglio–ottobre. Al fine di correlare i ceppi isolati da casi di infezione e da campioni ambientali e di correlare gli isolamenti italiani con quelli Svizzeri, è stata effettuata un'analisi molecolare mediante elettroforesi pulsata (PFGE). La PFGE è stata eseguita secondo un protocollo standardizzato a livello europeo (progetto Salmgene). I profili ottenuti mediante PFGE sono stati analizzati utilizzando il software Bionumerics ed è stata eseguita una *cluster analysis* per raggruppare i ceppi analizzati in base alle omologie. I ceppi di *S. Napoli* inviati dai laboratori partecipanti alla rete Enter-net sono stati analizzati mediante PFGE. La *cluster analysis* ha evidenziato una stretta correlazione tra i ceppi umani e ambientali provenienti dalla Lombardia. L'analisi ha inoltre messo in evidenza una stretta omologia tra i ceppi isolati in provincia di Varese e i ceppi isolati in Svizzera. Una debole correlazione genetica è emersa tra i ceppi isolati in altre regioni italiane. La PFGE rappresenta un utile strumento di epidemiologia molecolare e può essere utilizzato per monitorare e descrivere la circolazione di particolari cloni nelle varie fonti e serbatoi. Nel caso specifico ha consentito di correlare ceppi isolati da fonti diverse e da diverse aree geografiche.

## **P13 VALUTAZIONE DEI PROFILI PLASMIDICI E DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA DI *CAMPYLOBACTER SPP.* ISOLATI DA ALIMENTI**

Incoronata Fanelli (a), Michela Lucia Sammarco (a), Giancarlo Ripabelli (a), Ida Luzzi (b), Guido Maria Grasso (a)

(a) *Cattedra di Igiene, Dipartimento di Scienze per la Salute, Università degli Studi del Molise, Campobasso*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*Campylobacter jejuni* e *C. coli* sono considerati la principale causa di malattia gastro-intestinale nel mondo; inoltre, è stato documentato un forte aumento della loro resistenza nei confronti degli antibiotici. I plasmidi presenti in queste specie possono trasportare geni di virulenza o geni di resistenza agli antibiotici, rendendo tali microrganismi pericolosi patogeni. Lo studio è stato condotto su 54 ceppi di *C. jejuni* (13 da carne bovina, 6 da carne suina e 35 da carne avicola) e su 33 ceppi di *C. coli*, (2 da carne bovina, 4 da carne suina e 27 da carne avicola). Di questi ceppi è stata valutata la resistenza a 12 antibiotici (enrofloxacin, ciprofloxacina, acido nalidissico, gentamicina eritromicina, ampicillina, cefalotina, cefotaxime, sulfonamide, cloramfenicolo, tetraciclina, sulfametossazolo + trimethoprim) e il loro profilo plasmidico. I ceppi di *C. jejuni* in generale sono meno resistenti rispetto ai *C. coli*. L'antibiotico a cui sia *C. jejuni* sia *C. coli* sono meno resistenti è la gentamicina (7,4% e 6,1%); meno efficaci per *C. coli* sono la cefalotina e l'acido nalidissico (78,8%) e per *C. jejuni* sulfametossazolo+trimethoprim, cefalotina (77,8%) e acido nalidissico (70,4%). La resistenza all'acido nalidissico dei ceppi da pollo è elevatissima per *C. jejuni* (80%) e *C. coli* (85,2%). *C. jejuni* da suino (0%) e da bovino (7,7%) sono più sensibili alla gentamicina rispetto a *C. coli* (25%) da suino. La resistenza ai chinoloni (Na, Cip e Enr) di *C. coli* (78,8%, 57,6% e 51,55) è più alta rispetto a quella di *C. jejuni* (70,4%, 50,0% e 48,1%). La resistenza all'eritromicina di *C. coli* da suino (50%) e pollo (40,7%) è più alta rispetto ai *C. jejuni* (16,7% e 31,4%). Anche per la tetraciclina, *C. coli* da pollo (55,6%) e da suino (75%) è più resistente rispetto a *C. jejuni* (37,1% e 33,3%). Solo 3/13 ceppi di *C. jejuni* da bovino (R-type Kf) e 2/33 da pollo (R-type AmpKfs3SXT) presentano profili di resistenza uguali, mentre tutti i ceppi da suino hanno profili diversi. Per i *C. coli* da pollo abbiamo 2 ceppi con profilo uguale (NaKf) e 3 resistenti solo all'acido nalidissico, mentre quelli da suino e bovino hanno tutti profili diversi. Il range dei pesi molecolari dei plasmidi trovati in 11 (12,6%) ceppi di *C. coli* e *C. jejuni* va da 1,3 a 125,9 MDa. Dei 18 ceppi di *C. coli* R-Tet, 4 veicolano plasmidi con pesi molecolari da 1,3 a 50,1 MDa, di cui 3 (50,1, 44,7 e 28,3 MDa) hanno pesi molecolari compatibili con quelli codificanti per la resistenza alla tetraciclina. Dei 17 di *C. jejuni* R-Tet, nessuno possiede plasmidi compatibili con la questa resistenza. Inoltre, sono stati individuati due plasmidi (1 *C. coli* e 1 *C. jejuni* entrambi da pollo), di peso molecolare 23,9 MDa, che potrebbero corrispondere al pVir, legato alla virulenza e alla invasività dei ceppi di *Campylobacter spp.* I nostri dati confermano l'elevata resistenza di *Campylobacter spp.* a vari antimicrobici, in particolare ai fluorochinoloni, eritromicina e tetraciclina, soprattutto nei ceppi isolati da prodotti avicoli.

## **P14 STUDIO SULLA PRESENZA DI SALMONELLA SPP. IN ALCUNE MATRICI ALIMENTARI DI LARGO CONSUMO**

Roberto Fischetti, Mario Benassi, Carla Milioni, Franco Galli, Laura Gasperetti  
*Istituto Zooprofilattico delle Regioni Lazio e Toscana, Pisa*

Sono riportati i risultati dell'attività di controllo microbiologico degli alimenti nell'arco di 6 anni (1999-2004) riferiti alla ricerca di *Salmonella* (SA) in campioni nazionali ufficiali effettuati nel territorio di competenza del Dipartimento IZS di Pisa (Area Vasta province di Massa, Lucca, Pisa, Livorno). La SA è stata ricercata in 25g sempre con metodo ISO 6579 (seguendo le varie modifiche) anche nei molluschi bivalvi freschi (dove la normativa prevede un altro metodo come prima scelta); in alcuni casi, alla ripetizione dell'analisi, la SA è stata quantificata con metodo MPN a 3 provette seguendo il metodo ISO 6579 per ogni provetta. Le percentuali di positività (tra parentesi) nelle matrici più rappresentative esaminate sono risultate: macinato (macinato, hamburger, svizzera) 925 campioni (SA 2,1%); salsicce 779 campioni (SA 6,4%); molluschi bivalvi freschi 286 campioni (SA 1,1%); polpette (polpettone) 121 campioni (SA 4,1%). La ricerca quantitativa di SA ha fornito valori minori di 3 mpn/g in 6 su 6 campioni di macinato e in 12 su 13 campioni di salsiccia, mentre 1 è risultato uguale a 4,3 mpn/g. Per matrici delle quali disponiamo di un numero consistente di campioni e di analisi abbiamo tentato di prevedere un'attesa di ritrovamento di SA nel nostro territorio di competenza. Dividendo numero totale dei campioni per il numero dei positivi e moltiplicando per 25g (considerando 1 SA in 25g dopo aver valutato la quantità presente) si ottiene in via approssimativa un numero in grammi che rappresenta il peso della matrice nella quale ci attendiamo di ritrovare 1 SA; per il macinato l'attesa è di 1 SA ogni 1217g di prodotto, mentre per la salsiccia è di 1 SA per 382g.

## PREVALENZA DI RESISTENZE AGLI ANTIBIOTICI IN *CAMPYLOBACTER* ZONOSICI IN ALCUNE SPECIE ZOOTECHNICHE IN ITALIA, 2004

Alessia Franco (a), Alessandra Di Egidio (a), Sarah Lovari (a), Valentina Donati (a), Manuela Iurescia (a), Gessica Cordaro (a), Paola Di Matteo (a), Luigi Sorbara (a), Antonia Ricci (b), Giuseppe Merialdi (c), Chiara Magistrali (d), Antonio Battisti (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Reggio Emilia

(d) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

La Campylobatteriosi è una delle principali malattie batteriche enteriche nei paesi industrializzati e la più importante come *burden of disease* in alcuni paesi come gli USA. È sostenuta principalmente da *Campylobacter jejuni* e in minor misura da *C. coli*. Tali agenti si riscontrano comunemente nell'intestino di animali zootecnici in buono stato di salute (specie aviarie in particolare, suini, bovini, ovini) e in animali da compagnia e selvatici. L'uomo si infetta comunemente consumando prodotti di origine animale contaminati lungo la filiera produttiva o in seguito a cross-contaminazioni durante la preparazione degli alimenti. Nell'ultimo decennio, nei paesi industrializzati si è assistito all'emergenza e alla diffusione di resistenze ai fluorochinoloni e ai macrolidi in *C. jejuni* e *C. coli* isolati da specie zootecniche, associato all'uso estensivo di molecole appartenenti alle suddette classi. Nel corso del 2004 il Centro Nazionale di Referenza per l'Antibioticoresistenza ha effettuato, come studio pilota in collaborazione con la rete degli IIZZSS, campionamenti casuali di contenuti intestinali di specie aviarie (polli, tacchini), suini e bovini al macello, provenienti da aziende diverse di alcune regioni rappresentative del territorio italiano (Lazio, Toscana, Venezie, Emilia-Romagna, Abruzzo, Umbria, Marche). Presso il Centro Nazionale di Referenza per l'Antibioticoresistenza, gli isolati sono stati confermati a livello di specie mediante *Polymerase Chain Reaction* e saggiati nei confronti di un panel rappresentativo di molecole antimicrobiche di consenso internazionale (Eritromicina, Ampicillina, Gentamicina, Acido Nalidixico, Ciprofloxacina, Tetraciclina, Sulfa/Trimetoprim), secondo metodica di *Minimum Inhibitory Concentration* che ha fornito evidenza di riproducibilità nel corso di EQAS dell'Azione Concertata della Comunità Europea (V° FP) ARBAO II. Nelle specie considerate, in rapporto alle diverse condizioni di allevamento e di pressione selettiva, sono state riscontrate differenze nella prevalenza di resistenza alle molecole antimicrobiche considerate. Per quanto concerne i risultati relativi a fluorochinoloni e macrolidi, sono state rilevate resistenze elevate a Ciprofloxacina in *C. jejuni* e *C. coli* nelle specie aviarie e nel suino e in misura minore, in *C. jejuni* nel bovino. Analogamente, le resistenze più elevate a Eritromicina sono state riscontrate in *C. coli* isolati da specie aviarie e da suino, mentre sono risultate notevolmente inferiori in *C. jejuni*, specialmente di provenienza bovina. È noto che tali classi di antimicrobici rappresentano i farmaci di elezione delle infezioni invasive da *Campylobacter* nell'uomo. Il monitoraggio continuo delle resistenze in *Campylobacter* zoonosici nelle produzioni zootecniche sarà utile a fornire informazioni sempre aggiornate sulle tendenze di resistenza nei confronti di molecole preziose per la terapia delle infezioni batteriche nell'uomo e negli animali.

## **P15 PREVALENZA DI RESISTENZE AGLI ANTIBIOTICI IN ENTEROCOCCI DA SPECIE ZOOTECHNICHE IN ITALIA, 2003-2004**

Alessia Franco (a), Alessandra Di Egidio (a), Sarah Lovari (a), Antonia Ricci (b), Giuseppe Meriardi (c), Valentina Donati (a), Manuela Iurescia (a), Gessica Cordaro (a), Paola Di Matteo (a), Luigi Sorbara (a), Antonio Battisti (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Reggio Emilia

*Enterococcus faecalis* e *E. faecium* sono agenti responsabili di gravi infezioni nell'uomo (e.g. setticemie, endocarditi, infezioni urinarie). Negli ultimi anni, Enterococchi resistenti alla Vancomicina (VRE) sono emersi come una tra le cause più importanti di infezioni nosocomiali. La scarsa disponibilità di farmaci alternativi o la loro scarsa tollerabilità ha creato seri problemi terapeutici e rischio elevato di letalità nei pazienti colpiti. Nel recente passato, un intenso dibattito è insorto sul significato, in termini di rischi per l'uomo, della presenza e della diffusione di VRE nell'intestino di alcune specie zootecniche causata dall'utilizzo del glicopeptide Avoparcina come promotore di crescita. Enterococchi resistenti ai Glicopeptidi (GRE) permangono in alcune produzioni primarie (e.g. specie aviarie) anche molti anni dopo il divieto dell'uso di Avoparcina nelle produzioni zootecniche di alcuni paesi. Nel corso del 2004 il Centro Nazionale di Referenza per l'Antibioticoresistenza ha effettuato, in collaborazione con la rete degli IZZSS, campionamenti casuali di contenuti intestinali di specie aviarie (polli, tacchini), suini e bovini al macello, provenienti da aziende diverse di varie regioni del territorio italiano (Lazio, Toscana, Venezie, Emilia-Romagna). Presso il Centro Nazionale di Referenza per l'Antibioticoresistenza, gli isolati sono stati confermati a livello di specie mediante *Polymerase Chain Reaction* e saggiati nei confronti di un panel rappresentativo di molecole antimicrobiche di consenso internazionale e le resistenze fenotipiche alla Vancomicina osservate sono state confermate in PCR per l'identificazione dei geni responsabili. Nelle specie considerate, in rapporto alle diverse condizioni di allevamento e di pressione selettiva, sono state riscontrate differenze nelle prevalenze di resistenza a varie molecole antimicrobiche considerate. È importante rilevare che nelle specie zootecniche oggetto di campionamento, gli isolati testati hanno esitato assenza o frequenze molto basse di resistenza alla Vancomicina. Tali risultati appaiono confortanti per quanto concerne il rischio di trasmissione di resistenze alla Vancomicina lungo la filiera produttiva delle principali specie di animali zootecnici allevati in aree rappresentative del territorio Italiano.

## **P16 ISOLAMENTO DI CAMPYLOBACTER TERMOTOLLERANTI DA DERIVATI DEL LATTE DI BUFALA**

Giorgio Galiero, Anna Ruggia, Carmelo Morena, Maria Antonia Palazzo, Maria Teresa Supino, Giangaetano Durante

*Centro di Referenza Nazionale sull'Igiene e le Tecnologie dell'Allevamento e delle Produzioni Bufaline, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Fuorni, Salerno*

I *Campylobacter spp.*, in special modo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, sono la causa più comune di diarrea nell'uomo. L'infezione viene contratta principalmente attraverso il consumo di cibi e acqua contaminati o attraverso il contatto diretto con animali da reddito o da compagnia, che siano portatori. I prodotti alimentari più a rischio sono le carni mal cotte o poco cotte, il latte crudo e le preparazioni lattiero casearie fabbricate con latte non pastorizzato. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* sono specie microbiche definite termotolleranti in quanto capaci di crescere e tollerare temperature di 42°C. Di recente attraverso la Raccomandazione della Commissione del 19 Dicembre 2003 n. 2004/24/CE, la Comunità Europea ha disposto un programma di controlli ufficiali per la ricerca del *Campylobacter spp.* Tra i prodotti presi in considerazione vi sono i formaggi freschi prodotti a partire da latte crudo e termizzato. Allo scopo di fornire i dati richiesti dalla Commissione Europea, di contribuire al sistema di sorveglianza sulle zoonosi e iniziare a valutare i rischi connessi al consumo di mozzarella di bufala, è stato effettuato un vasto monitoraggio finalizzato alla ricerca dei *Campylobacter* termotolleranti. Il campionamento di derivati del latte di bufala è stato effettuato da marzo 2004 a giugno 2005. Sono stati interessati 40 diversi caseifici ubicati nel territorio della Regione Campania. Complessivamente sono stati campionati 108 prodotti. La ricerca di *Campylobacter spp.* termotolleranti è stata effettuata mediante saggio colturale. Più in particolare 25 gr di campione venivano posti in 225 ml di *Campylobacter Enrichment Broth* (Oxoid) addizionato con *Campylobacter growth supplement* (Oxoid) e *Preston Campylobacter selective supplement* (Oxoid) e incubati a 42°C 48 ore in microaerofilia. Dal terreno di arricchimento si procedeva alla semina in doppio su terreno selettivo *Preston agar* (Oxoid) e incubazione in microaerofilia per 24-72 ore a 42°C. Al termine dell'incubazione le colonie sospette venivano sottoposte al test di agglutinazione al lattice (*Campylobacter test kit-Oxoid*). I cloni batterici positivi al test venivano quindi saggiati con APICampy (bioMerieux) per la definitiva tipizzazione biochimica. L'indagine ha rivelato la presenza di 5 campioni positivi pari al 4,6% delle matrici saggate. Più in particolare, sono risultati positivi 4 campioni di mozzarella e 1 di caciocavallo appartenenti a due diverse industrie casearie. Tutti i ceppi sono stati tipizzati come *Campylobacter coli*. La presenza del microrganismo, per quanto contenuta, dimostra che la contaminazione non è un evento infrequente, segno che lungo la filiera esistono dei punti critici non adeguatamente posti sotto controllo. Alla luce dei risultati ottenuti risulta indispensabile verificare le procedure di autocontrollo per le industrie del settore al fine di innalzare il livello di sicurezza microbiologica dei prodotti caseari a base di latte di bufala.

## **P17** CONFRONTO DI METODICHE PER LA DIAGNOSI DI INFEZIONE DA NOROVIRUS IN PAZIENTI PEDIATRICI CON GASTROENTERITE

Giovanni Giammanco (a), Simona De Grazia (a), Stefania Ramirez (a), Claudia Colomba (b), Serenella Arista (a)

(a) *Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo*

(b) *Istituto di Patologia Infettiva e Virologia, Università degli Studi di Palermo*

È noto il ruolo dei norovirus quali agenti di enterite virale epidemica. Le limitate informazioni epidemiologiche tuttora disponibili sul loro ruolo in casi sporadici di enterite stimolano ad indagare in tal senso. L'estrema variabilità dei rende difficile la messa a punto di test validi per la loro identificazione in campioni fecali. Attualmente, la ricerca di antigeni o del genoma virale trova maggiori applicazioni. Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'impiego di differenti metodiche per la diagnosi di infezione da norovirus in 199 bambini, di età < 3 anni, ospedalizzati a Palermo nel 2004 per enterite acuta. Le tecniche utilizzate sono state:

- una RT-PCR che amplifica la regione della polimerasi virale con i primer specifici JV12a e JV13b;
- una PCR, effettuata con gli stessi primer, ma a partire da cDNA ottenuto con random primer esamerici;
- una eminested PCR condotta con i primer Ni e JV13b interni ai precedenti;
- un test ELISA commerciale, in grado di rivelare la presenza e differenziare antigeni specifici dei norovirus di genogruppo I e II.

Mediante RT-PCR convenzionale, il 32% dei campioni ha rivelato presenza di norovirus. Una maggiore sensibilità, con un incremento di circa il 14%, si è ottenuta mediante eminested PCR. L'impiego del cDNA, utile per il saggio contemporaneo di più agenti virali, ha mostrato una minore sensibilità della RT-PCR. La tecnica ELISA ha fornito risultati discordanti, in termini di sensibilità e specificità, rispetto alle precedenti metodiche. I risultati ottenuti hanno dimostrato un ampio ruolo dei norovirus quali agenti di enteriti sporadiche infantili anche nella nostra area geografica. La possibilità di amplificazione genica con impiego dei primer JV12a e JV13b ci induce a ritenere che i genotipi di norovirus circolanti a Palermo siano analoghi a quanto riscontrato nel nord Italia o in altri paesi occidentali. Una conferma mediante sequenziamento dei ceppi virali verrà in seguito effettuata. A fini diagnostici, nella nostra esperienza, l'utilizzo di un secondo step di amplificazione ha fornito i migliori risultati, ma una strategia basata sull'impiego di più coppie di primer che riconoscono diverse regioni del genoma merita ulteriori sviluppi. La discordanza coi risultati ottenuti in ELISA induce a ritenere le tecniche di amplificazione una scelta prioritaria nella diagnostica delle infezioni da norovirus. Ulteriori studi sulla variabilità antigenica e la cross-reattività di questi virus sono necessari per la messa a punto di tecniche immuno-enzimatiche affidabili.

## **P18** RECENTE EPISODIO DI TOSSINFEZIONE ALIMENTARE A MARSALA (TRAPANI)

Bartolomeo Gisone (a), Candida Rubino (a), Vincenzo Di Gaetano (a), Caterina Mammina (b), Maria Anna Adragna (a), Alessandro Cassisa (a), Valentina Affaticato (a), Francesco Regina (a), Francesco Dandone (c), Giovanni Pipitone (c), Francesco Calcara (d)

(a) AUSL 9 TP, Laboratorio di Sanità Pubblica, Trapani

(b) Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione di Igiene, Università degli Studi di Palermo

(c) Servizio di Igiene Pubblica, Marsala

(d) Responsabile Laboratorio Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero San Biagio, Marsala

Nel mese di settembre 2005, il Servizio di Igiene Pubblica del Distretto di Marsala è stato attivato in seguito a notifica di ipotesi di tossinfezione alimentare. È stato somministrato ai soggetti giunti al Pronto Soccorso cittadino un questionario sugli alimenti consumati. I casi riscontrati sono stati quaranta: dieci ospedalizzati, di cui sette bambini (età media 4-5 anni). Gli intervistati avevano cenato in un ristorante a Marsala (Trapani). L'indagine ambientale sulle cucine e i locali di lavoro non ha rilevato inadempienze. Il ristoratore utilizzava routinariamente uova pastorizzate, ma nella giornata precedente al giorno *indice* erano state utilizzate per la preparazione di alcuni dolci un centinaio di uova fresche. Il campionamento di alimenti è stato limitato a torta gelato di caffè e parfait di mandorle conservati dal giorno *indice* e acqua di rubinetto prelevata dalla cucina. Sono stati campionati anche alimenti di origine animale: gamberetti non cotti inviati all'Istituto Zooprofilattico Regione siciliana. Sono stati effettuati coproculture e tamponi faringei dei 38 addetti alla ristorazione. Si è proceduto alla chiusura temporanea, a scopo precauzionale, dell'attività. I campioni di alimenti pronti per il consumo sono stati esaminati presso il Laboratorio di Sanità Pubblica di Trapani per i parametri riportati in O.M. del 11/10/1978. L'identificazione degli stipiti è stata condotta tramite API 20 E. L'acqua potabile è stata analizzata per i parametri riportati nel D.lvo 31/2001; inoltre è stata ricercata *Salmonella spp.* dopo prearricchimento in brodo selenite cisteina. I tamponi faringei sono stati saggiati in agar sangue, agar Tinsdale, agar sale-mannite. Sono state, infine, effettuate coproculture in terreno SS. Dal parfait di mandorle è stata identificata *S. enteritidis*. Lo stipite è stato inviato al Centro Enterobatteri Patogeni Italia Meridionale (CEPIM), dove è stata confermata l'identificazione. Nei dieci ceppi isolati dalle feci dei soggetti ospedalizzati, inviati al CEPIM, è stata rilevata la presenza di *S. enteritidis*, confermandone il ruolo causale nello scoppio epidemico. Tenuto conto dell'ecologia di *S. enteritidis*, si può ipotizzare che si sia trattato di una cross-contaminazione (mani, attrezzature, ambiente), causata da una prassi comportamentale errata da parte del cuoco, che aveva rotto i gusci delle uova per la preparazione di pan di Spagna e, contemporaneamente, aveva utilizzato uova pastorizzate per l'alimento incriminato. Quest'ultimo aspetto può avere generato una falsa sicurezza nell'operatore e creato il presupposto della tossinfezione.

## **P19 S. NAPOLI IN LOMBARDIA: L'EMERGENZA CONTINUA**

Maria Gramigna (a), Anna Pavan (a), Gabriele Fontana (b), Anna Farina (b), Mirella Pontello (b)

(a) *Unità Operativa Prevenzione, Direzione Generale Sanità, Regione Lombardia, Milano*

(b) *Istituto di Igiene, Università degli Studi di Milano*

La ri-emergenza di *Salmonella enterica* subsp *enterica* sierotipo *Napoli* a partire dall'anno 2.000 in Lombardia - e in particolare nella provincia di Varese - è già stata evidenziata nel corso del workshop di Enter-net 2003 e 2004: l'insorgenza dei casi era di tipo stagionale (mesi estivi) e riguardava prevalentemente bambini di età inferiore ai 5 anni. Non essendo stati raccolti elementi che potessero chiarire la catena di contagio (fonti e veicoli), con la collaborazione della Regione Lombardia e delle Aziende Sanitarie Locali lombarde sono stati avviati, prima uno studio retrospettivo relativo al biennio 2002-2003, poi uno studio descrittivo dei casi di salmonellosi notificati a partire da maggio 2004. È invece ancora in fase di elaborazione uno studio caso-controllo relativo ai casi del 2004-2005 in cui saranno presi in considerazione anche i casi relativi all'ultimo picco (maggio-giugno 2005). L'obiettivo principale è stato quello di indagare la tipologia dei fattori alimentari e non alimentari associati alla comparsa delle infezioni da *S. Napoli*, ma attraverso lo studio è stato anche possibile procedere ad una iniziale valutazione delle attività di sorveglianza delle salmonellosi non tifoidee e individuare la possibilità di una maggiore sinergia tra il sistema di notifica e la rete Enter-net. I dati raccolti hanno riguardato 1.256 casi di salmonellosi notificati dalle 14 AASSLL della Lombardia tra i quali sono stati riconosciuti 42 casi di *S. Napoli* (3,3%), la cui distribuzione spaziotemporale conferma la comparsa dei casi nei mesi estivi (nessun caso prima di aprile) e la concentrazione nell'area nord-occidentale della regione Lombardia; 19 casi su 42 hanno riguardato bambini di età < 6. Il sierotipo risulta particolarmente aggressivo e in molti casi è causa di ricovero (52%). Per quanto attiene le modalità di contagio, l'analisi dei fattori di rischio ha evidenziato che non emergono chiare associazioni con veicoli alimentari, ma piuttosto è riferita l'esposizione al contatto con animali, la residenza in ambienti rurali o attività ricreative all'aperto: a partire da questa constatazione, nel 2005 è stato messo a punto un questionario più dettagliato, per poter eventualmente riconoscere specifiche fonti o veicoli di infezione. Lo studio caso-controllo, ma i dati potranno essere elaborati solo all'inizio del 2006, intende "far luce" sul veicolo, probabilmente di tipo non alimentare, coinvolto nella diffusione di questo particolare sierotipo di *Salmonella*, che ormai da cinque anni si presenta durante il periodo estivo soprattutto nell'area nord-occidentale della Lombardia.

## SICUREZZA MICROBIOLOGICA DI VERDURE DI IV GAMMA DESTINATE ALLA RISTORAZIONE COLLETTIVA

Maria Ausilia Grassi, Fabio La Neve, Marco Ortoffi  
Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Grugliasco

Obiettivo della ricerca era valutare il livello igienico di verdure di IV gamma prodotte e commercializzate sul territorio regionale, destinate ad un particolare target di consumatori che può comprendere bambini, anziani e immunodepressi. A tal fine sono stati ricercati i seguenti microrganismi: *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* patogeni, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila* e *Yersinia enterocolitica*.

I campioni sono stati prelevati presso tre differenti punti:

- uno stabilimento di produzione sito nel territorio della regione Piemonte;
- punti di ristorazione collettiva (mense universitarie);
- dal commercio.

Per i campioni provenienti dalla ristorazione collettiva e dal commercio l'analisi è stata condotta sul prodotto confezionato "pronto al consumo" mentre, presso lo stabilimento i vegetali sono stati campionati in tre momenti differenti: materia prima dopo una grossolana mondatura (semilavorato), sul vegetale prima dell'asciugatura mediante centrifuga e sulle verdure confezionate. Sono stati analizzati in totale 185 campioni così distribuiti: commercio 72 campioni; ristorazione 12 campioni; stabilimento 101 campioni. Su tali campioni è stata eseguita la ricerca di *Salmonella spp.* (metodica ISO 6579), *Listeria monocytogenes* (metodica ISO 11290), *E. coli* patogeni (tecnica di immunoseparazione magnetica - Dynabeads), *Campylobacter jejuni* (metodica FDA/USDA), *Aeromonas hydrophila* (metodica interna), *Yersinia enterocolitica* (metodica ISO10273). L'identificazione delle colonie sospette è stata eseguita con metodica PCR. In nessuno dei campioni analizzati è stato isolato *Campylobacter jejuni*, mentre per *Salmonella spp.* è risultato positivo un campione prelevato in stabilimento (positività pari allo 0,54%). La ricerca di *Listeria monocytogenes* ha dato esito positivo in 10 campioni provenienti dal commercio (5,4%) mentre per quanto riguarda *Yersinia enterocolitica*, sono risultati positivi 31 campioni, pari al 16,7%. La ricerca dei geni d'espressione della patogenicità di tale microrganismo (*ail* - fattore di invasione e *yst* - codificante per l'elaborazione di una tossina termolabile) ha avuto esito positivo nell'1,8% dei ceppi, pari a due campioni. *E. coli* è stato isolato in due campioni (0,54%), così come *Aeromonas hydrophila* (1,08%). Il confronto dei risultati da noi ottenuti con i dati presenti in bibliografia, evidenzia come le percentuali di positività da noi rilevate siano contenute; a fronte di risultati più confortanti rispetto quindi a quanto riportato in letteratura scientifica appare tuttavia importante sottolineare la presenza di *Listeria monocytogenes* nei campioni del commercio. Tale positività suggerisce la necessità di maggiori controlli in fase di produzione.

*Ricerca eseguita con Progetto Ricerca Sanitaria Finalizzata finanziato dalla Regione Piemonte n. 1837/27.001*

## CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI UN CLONE MULTIRESISTENTE DI *SALMONELLA ENTERICA* SIEROTIPO *TYPHIMURIUM* EMERGENTE IN ITALIA

Caterina Graziani (a), Claudia Lucarelli (a), Luca Busani (a,b), Anna Maria Dionisi (a), Slamowir Owczarek (a), Laura Villa (a), Antonia Ricci (b), Alfredo Caprioli (a)  
(a) *Dipartimento Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*  
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

La resistenza batterica agli antibiotici rappresenta un importante problema di Sanità Pubblica. Il fenomeno è ampiamente riscontrato in *Salmonella* e *S. typhimurium* (STM) è uno dei sierotipi che più frequentemente presenta resistenza a più antibiotici (multiresistenza). L'analisi dei profili di resistenza dei ceppi di STM isolati in Italia da infezioni umane ha mostrato negli ultimi anni la diffusione di isolati con resistenza ad ampicillina, streptomina, sulfonamidi, tetraciclina (ASSuT), che sono attualmente più frequenti di quelli con il profilo ACSSuT, con resistenza al cloramfenicolo (C), tipicamente associato al fagotipo DT104. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di caratterizzare ceppi di STM con profilo ASSuT e valutarne la possibile origine clonale. Sono stati selezionati 18 ceppi di origine umana e 8 di origine animale. La maggior parte dei ceppi risultava non fagotipizzabile (NT). Alcuni appartenevano ai fagotipi DTU302, DT7VAR, RDNC (lettura non conforme allo schema) e nessuno al fagotipo DT104. L'analisi dei profili di elettroforesi in campo pulsato (PFGE) ha mostrato la prevalenza di un profilo identificato nell'archivio europeo Salmgene come XB0079, risultato che indica l'appartenenza dei ceppi ad uno stesso clone batterico. L'analisi mediante PCR dei geni di resistenza ha confermato l'origine clonale, in quanto tutti i ceppi presentavano i geni  $bla_{TEM}$  per la resistenza all'ampicillina, *strA-strB* per la resistenza alla streptomina, *sul2* per la resistenza ai sulfamidici e *tetB* per la resistenza alla tetraciclina. La grande uniformità riscontrata nei geni potrebbe essere spiegata dal fatto che sono molto comuni. In particolare, il gene *tetB* sembra essere una caratteristica di questo clone in quanto è generalmente poco diffuso in *Salmonella*. In conclusione, i risultati di questo studio indicano che gli stipiti di *S. typhimurium* con profilo ASSuT, che negli ultimi tre anni sono stati riscontrati con frequenza crescente tra i ceppi che causano infezioni umane in Italia, appartengono, in maggioranza ad uno stesso clone batterico. Questo clone, diversificato fenotipicamente in vari fagotipi, si distingue dalla linea clonale di *S. typhimurium* DT104 per l'assenza di resistenza a cloramfenicolo ed è caratterizzato dal profilo di PFGE XB0079 e dalla resistenza alla tetraciclina, conferita dal solo gene *tetB*. L'uso di strumenti molecolari per la caratterizzazione dei ceppi consente di avere indicazioni sulla complessa epidemiologia delle salmonelle in natura.

## **P20** CARATTERIZZAZIONE GENOMICA MEDIANTE MULTIPLEX-PCR DI CEPPI DI *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* ISOLATI DA VACCHE DA LATTE AFFETTE DA SINDROME EMORRAGICA DEL DIGIUNO

Grazia Greco, Anna Bellacicco, Maria Stella Lucente, Giancarlo Bozzo, Gianluca Di Gioia, Sebastiano Tinelli, Canio Buonavoglia

*Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Valenzano, Bari*

Scopo del lavoro è stato quello di caratterizzare, mediante multiplex-PCR, i ceppi di *Clostridium perfringens* isolati da vacche adulte affette da sindrome emorragica del digiuno. Nel periodo compreso tra giugno 2002 e settembre 2005, 29 vacche da latte di razza bruna italiana, allevate in 29 differenti aziende zootecniche della Murgia sud-orientale ciascuna delle quali costituita da un numero di animali variabile tra 15 e 150, sono state oggetto di accertamenti diagnostici. In tutti i casi l'anamnesi recente riferiva l'insorgenza improvvisa di un quadro acuto di malattia caratterizzata da depressione, anoressia, agalassia, ipomotilità del ruminale e dolore addominale. Dopo un decorso ingravescente, non superiore a 24 ore, gli animali andavano incontro a morte. In più casi veniva riferito che nell'ambito dello stesso allevamento tale sintomatologia ad esito infausto era ricorrente e in conseguenza di ciò gli allevatori praticavano la macellazione d'urgenza ai primi sospetti di malattia. Il quadro necroscopico, sia dopo morte spontanea che dopo eutanasia, era caratterizzato da estese lesioni necrotico-emorragiche dell'intestino tenue confinate, in particolare, al tratto digiunale. Era evidente una grave e totale distruzione della mucosa con presenza di estesi ematomi a carico della sottomucosa e della tonaca muscolare. In più casi l'estensione del processo patologico alla sierosa aveva prodotto versamenti emorragici in cavità peritoneale. Da ciascun animale sono stati prelevati campioni di contenuto digiunale, fegato, reni e sangue cardiaco che sono stati sottoposti ad esami batteriologici. Le coltivazioni in anaerobiosi sono state eseguite su *egg yolk agar* addizionato con cicloserina (400 mg/l) [*Tryptose Sulphite Cycloserine* (TSC)]. Dopo incubazione a 37 °C per 2 giorni, le colonie sospette sono state esaminate al microscopio, mediante colorazione di Gram, e inoculate in brodo tioglicolato (FTG) (Difco) a 37 °C per una notte. Un millilitro delle colture in FTG con D-cicloserina (400 mg/l) è stato sottoposto a screening diagnostico mediante multiplex-PCR per la ricerca delle sequenze geniche codificanti le tossine  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta_2$ ,  $\epsilon$ ,  $\iota$ , e l'enterotossina di *C. perfringens*. Dai reperti patologici del 100% delle bovine è stato isolato *C. perfringens*. Sottoposti a genotipizzazione mediante multiplex-PCR tutti gli stipti isolati sono stati caratterizzati come *C. perfringens* tossinotipo A e il 31% è risultato positivo anche per la tossina  $\beta_2$ . Il costante isolamento di *C. perfringens* tipo A, talvolta positivo per la tossina  $\beta_2$ , nei reperti anatomopatologici di tutte le bovine affette da sindrome emorragica del digiuno, ne ipotizza un ruolo patogenetico importante, pur se non necessariamente primario. Il dato epidemiologico è utile ai fini di una profilassi immunizzante mirata.

## **P21** CARATTERIZZAZIONE DI CEPPI DI *SALMONELLA* *TYPHIMURIUM* ISOLATE IN PIEMONTE NELL'ANNO 2004 NELL'AMBITO DELLA RETE ENTER-NET

Vesselina Kroumova (a), Anna Maria Dionisi (b), Emma Filetici (b), Ilaria Crespi (a), Anna Camaggi (a), Paola Macaluso (a), Stefania Grasso (a), Ida Luzzi (b), Giacomo Fortina (a)  
(a) *Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedale Maggiore, Novara*  
(b) *Dipartimento di Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore Sanità, Roma*

La sorveglianza delle infezioni zoonotiche a trasmissione alimentare si avvale della struttura e delle caratteristiche del sistema di sorveglianza Enter-net Italia. Questo consente di valutare il valore aggiunto dell'uso routinario dei metodi di tipizzazione molecolare nell'indagine per i principali agenti zoonotici ottenendo in questo modo un quadro più preciso della situazione epidemiologica. Tra le *Salmonelle* non tifoidee il sierotipo *Typhimurium* è prevalente nel nostro Paese. Scopo dello studio è valutare alcune caratteristiche fenotipiche e genotipiche di ceppi di *Salmonella typhimurium* isolate in Piemonte nell'anno 2004 allo scopo di valutare l'importanza di queste tecniche per meglio definire il quadro epidemiologico. Sono stati analizzati n. 277 *Salmonelle typhimurium* isolate in Piemonte nell'anno 2004. Di tutte queste è stata saggiata la sensibilità nei confronti di un pannello 10 antibiotici (Ampicillina, Amoxicillina/Acido clavulanico, Acido nalidixico, Cefotaxime, Cefalotina, Cloramfenicolo, Ciprofloxacina, Gentamicina, Tetraciclina, Trimetoprim/Sulfametoxazolo). Inoltre di n. 127 *Salmonelle* è stata effettuata la fagotipizzazione e di n. 122 si è determinato il profilo elettroforetico utilizzando la tecnica di PFGE. Relativamente alle resistenze nel confronto degli antibiotici saggiati si sono evidenziate resistenze, a uno o più antibiotici, nel 90,6% del totale con un aumento dei ceppi multiresistenti. Fra le n. 127 *Salmonelle* sottoposte a tipizzazione fagica sono stati evidenziati n. 27 tipi magici diversi. Nella tipizzazione molecolare mediante PFGE i vari profili elettroforetici sono stati valutati e comparati nella loro matrice di similarità mediante la costruzione di un dendrogramma. In definitiva, come atteso, i dati dimostrano come l'utilizzo delle tecniche di tipizzazione fagica abbinate all'elettroforesi molecolare, pur non essendo in grado di risolvere tutti i problemi, consentono di meglio evidenziare situazioni epidemiologiche anche complesse nell'ambito della sorveglianza delle infezioni zoonotiche a trasmissione alimentare.

## **STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE COMMERCIALIZZATI IN PUGLIA E BASILICATA: RILIEVO E CARATTERIZZAZIONE ENTEROTOSSICA**

Giovanna La Salandra (a), Elisa Goffredo (a), Carmine Pedarra (a), Maria Concetta Nardella (a), Laura La Torre (a), Angela Dambrosio (b), Nicoletta Cristina Quaglia (b), Giovanni Normanno (b)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia*

(b) *Dipartimento di Sanità e Benessere Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari*

L'intossicazione da enterotossine stafilococciche (SEs) continua ad occupare una importante posizione tra le malattie a trasmissione alimentare, in quanto, essendo *Staphylococcus aureus* largamente diffuso tra uomo e animali produttori di alimenti, la contaminazione degli stessi appare un evento tutt'altro che raro. La patologia è lieve, autolimitante e di breve durata, ma essendo piuttosto frequente causa notevoli danni economici in termini di perdita di produttività del soggetto colpito, di ospedalizzazione dei soggetti più sensibili e di distruzione delle derrate contaminate. Tuttavia, non tutti i ceppi di *S. aureus* risultano enterotossici per cui, per una corretta valutazione del rischio legata al consumo di alimenti contaminati, è necessario affiancare all'isolamento del microorganismo il rilievo delle SEs eventualmente prodotte dal ceppo. In questa nota sono riportati i risultati di una *survey* finalizzata a conoscere la prevalenza e l'entità della contaminazione da parte di *S. aureus* in alimenti di origine animale commercializzati in Puglia e Basilicata e sottoposti ad analisi ufficiale nel corso del 2004. Per il rilievo della capacità enterotossica dei ceppi esaminati sono state impiegate una metodica immunologia (agglutinazione passiva inversa al lattice) per il rilievo di SEA, SEB, SEC e SED e una tecnica biomolecolare (Polymerase Chain Reaction) per il rilievo dei geni *entA*, *entB*, *entC*, *entD* e *entE*. Dei 663 campioni analizzati (295 campioni di carni lavorate, 121 di carni e frattaglie e 247 di prodotti lattiero-caseari) 91 (14%) sono risultati contaminati da *S. aureus* con cariche che oscillavano da 10 a 10<sup>4</sup> UFC/g e 46 (50,5%) dei campioni positivi sono risultati contaminati da ceppi potenzialmente enterotossici. I risultati ottenuti evidenziano che la contaminazione degli alimenti con ceppi enterotossici di *S. aureus* rappresenta una evenienza frequente e che vanno implementate stringenti misure igieniche lungo l'intera filiera produttiva al fine di ridurre l'incidenza dell'intossicazione da enterotossina stafilococcica.

## **RICERCA E GENOTIPIZZAZIONE DI *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* IN FECI UMANE MEDIANTE CLONAZIONE E SEQUENZIAMENTO DEL DNA**

Annalisa Leone (a), Giancarlo Ripabelli (a), Jim McLauchlin (b), Guido Maria Grasso (a)  
(a) *Cattedra di Igiene, Dipartimento di Scienze per la Salute, Università degli Studi del Molise, Campobasso*  
(b) *Health Protection Agency, Food Safety Microbiology Laboratory, London*

La criptosporidiosi umana presenta molteplici fonti di infezione e diverse vie di trasmissione. I metodi di biologia molecolare hanno permesso di identificare i due maggiori genotipi all'interno di *C. parvum* con due differenti cicli di trasmissione e cioè il genotipo 1 o *Hominis* ad esclusiva circolazione interumana, e il genotipo 2 o bovino, trasmesso dall'animale all'uomo. Le oocisti sono molto resistenti al cloro per cui si diffondono rapidamente nell'acqua destinata al consumo umano e nelle piscine. La criptosporidiosi può essere trasmessa anche attraverso il contatto diretto tra l'uomo e gli animali. *Cryptosporidium meleagridis* è stato descritto per la prima volta nel tacchino. Il primo caso di infezione umana è stato documentato in pazienti HIV positivi ma, in seguito, è stato isolato anche in persone immunocompetenti. Alcuni autori affermano che non è necessario un contatto diretto con animali da reddito per l'infezione da *C. meleagridis*, ipotizzando solo una diffusione ambientale delle oocisti, particolarmente attraverso la via idrica. In questo studio 388 campioni fecali umani sono stati sottoposti ad amplificazione del gene COWP mediante nested-PCR e 283 sono risultati positivi. Da questi ultimi sono stati genotipizzati 55 campioni mediante RFLP. Sono stati riscontrati 40/55 *C. parvum* genotipo 2; 6/55 *C. parvum* genotipo 1; 4/55 genotipi non classificabili, quindi atipici; 4/55 miscele di più specie o genotipi che non hanno consentito di individuare con certezza la specie o il genotipo associato poiché composti da più profili di restrizione. Per questi ultimi due casi (8 campioni) gli amplificati sono stati clonati e sequenziati (miscele) o direttamente sequenziati (genotipi atipici). Il sequenziamento ha utilizzato gli stessi primer, (ICOWPF e ICOWPR) della nested-PCR. Le sequenze ottenute, analizzate con l'uso di Chromas, sono state identificate con il sistema BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Dal sequenziamento delle 4 miscele clonate una è risultata negativa; dal sequenziamento delle restanti 3 sono risultati *C. parvum* genotipo 2, *C. meleagridis* (o genotipo 3) e *C. parvum* genotipo 1. Dei 4 genotipi atipici, invece, dopo il sequenziamento solo 2 sono risultati positivi, entrambi *C. meleagridis*. In totale, considerando anche i dati ottenuti dal sequenziamento, sono stati individuati 41 *C. parvum* genotipo 2, 7 *C. parvum* genotipo 1, 3 *C. meleagridis*. Ciò dimostra che l'uso delle tecniche molecolari permette un'accurata identificazione delle specie e dei genotipi del parassita migliorando vari aspetti come la diagnostica, la tassonomia, il trattamento e il controllo della criptosporidiosi.

## **P22** **SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE TRASMESSE DA ALIMENTI (MTA) RAPPORTO 2002-2004**

Renata Magliola (a), Salvatore Di Gioia (b), Lucia Decastelli (c)

(a) *Dipartimento di Prevenzione della ASL 7, Centro di Riferimento Regionale per la Sorveglianza, la Prevenzione e il Controllo delle Malattie Trasmesse da Alimenti, Chivasso, Torino*

(b) *Centro di Riferimento Regionale per la Sorveglianza, la Prevenzione e il Controllo delle Malattie Trasmesse da Alimenti, Chivasso, Torino*

(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

La Regione Piemonte ha sospeso dal 2002, le procedure di rinnovo/rilascio dei libretti sanitari, predisponendo contestualmente un piano di controllo degli episodi e dei casi di Malattie Trasmesse da Alimenti (MTA) attraverso l'attivazione di un sistema di sorveglianza in grado di:

- monitorare l'andamento delle MTA;
- identificare gli agenti eziologici, i veicoli alimentari, le sorgenti di infezione o di contaminazione, i fattori di rischio;
- identificare misure di controllo e di prevenzione efficaci;
- valutare i risultati dei provvedimenti adottati.

Tale sistema ha affiancato e non sostituito il flusso informativo delle malattie infettive SIMID. Dall'analisi dei dati raccolti nel triennio 2002/2004, sono emersi 270 episodi di malattia di origine alimentare: 3 casi di botulismo, 189 casi di tossinfezione alimentare e 78 casi di avvelenamento da funghi. Escludendo gli episodi legati all'avvelenamento da funghi, solo 126 casi dei 192 registrati sono stati segnalati anche al SIMID. Il tipo di comunità più coinvolta è stata quella familiare (69% degli episodi), seguita dalla pubblica (21%), dalla collettiva (8%) e non nota (2%). *Salmonella spp.* si è confermata come il principale agente implicato negli episodi tossinfettivi, con una percentuale media, nel triennio 2002-2004, del 62%. Il veicolo di infezione è stato nel 58% dei casi l'uovo crudo; a seguire, con percentuali più ridotte, si rinvengono alimenti quali carne e pesce. Nel 24% degli episodi, invece, non è stato possibile formulare ipotesi in merito all'alimento coinvolto. I fattori che hanno contribuito al verificarsi di un episodio sono prevalentemente riconducibili a due situazioni: nel 47% mantenimento degli alimenti a temperatura non idonea con interruzione della catena del freddo e, nel 30%, contaminazione attrezzature/piani di lavoro. I dati evidenziati confermano che i fattori di rischio implicati nella genesi di MTA sono riconducibili, quasi totalmente, alle modalità di conservazione, ad erronei trattamenti e alla provenienza delle materie prime. L'ipotesi di contaminazione degli alimenti da parte dell'operatore risulta essere, invece, un evento non comune. Tale considerazione rappresenta un'ulteriore positiva conferma della bontà del provvedimento di sospensione delle visite mediche per il rilascio del libretto sanitario. Inoltre, essendo l'epidemiologia delle MTA fortemente condizionata da un'insieme di variabili, che determinano oscillazioni periodiche dei dati di incidenza, si evidenzia la necessità di disporre di un sistema di sorveglianza specifico che possa raccogliere e analizzare i dati per lunghi periodi al fine di fornire immagini reali e significative del fenomeno.

## **BIOTIPI E PULSOTIPI DI *SHIGELLA SONNEI* NELL'ITALIA MERIDIONALE NEGLI ANNI '70 –'90**

Caterina Mammina (a), Aurora Aleo (a), Antonino Nastasi (b)

(a) *Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo*

(b) *Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze*

Recentemente è stata riportata l'identificazione di *Shigella sonnei* biotipo g in episodi epidemici in collettività chiuse e in comunità sia in Lombardia nel 2001 che in Sicilia nel 2003. La tipizzazione mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE) ha dimostrato l'appartenenza degli stipiti di biotipo g ad un pulsotipo definito B e il possesso da parte di essi di integroni di classe 2 responsabili del caratteristico fenotipo di resistenza al trimetoprim e alla streptomina. Stipiti di *S. sonnei* dotati delle medesime caratteristiche fenotipiche e genotipiche sono stati recentemente identificati anche in Irlanda, Australia, Sud Corea e Giappone. Anche negli Stati Uniti e in Inghilterra e Galles è stata riportata l'identificazione in una proporzione molto elevata degli stipiti di recente isolamento di caratteristiche fenotipiche compatibili con *S. sonnei* biotipo g. È stata, quindi, avanzata l'ipotesi dell'emergenza e diffusione su scala mondiale di un clone epidemico. Presso il Centro Enterobatteri Patogeni dell'Italia meridionale è stato condotto uno studio finalizzato alla caratterizzazione fenotipo-genotipica di stipiti di *S. sonnei* isolati nell'Italia meridionale negli anni '70-'90. La tipizzazione biochimica è stata eseguita mediante valutazione della fermentazione di xilosio e ramnosio e dell'idrolisi dell'ONPG. Il saggio della sensibilità ai chemio-antibiotici è stato eseguito mediante diffusione in agar secondo le raccomandazioni dell'NCCLS. La PFGE è stata effettuata dopo restrizione enzimatica del DNA con *Xba*I. L'identificazione degli integroni di classe 2 è stata effettuata mediante PCR con i primers hep74 e hep51. Tra gli stipiti di biotipo g isolati nel decennio 1971-'80 nessuno è risultato dotato di resistenza al trimetoprim, del pulsotipo B e di integroni di classe 2, mentre tra gli stipiti appartenenti allo stesso biotipo isolati nel decennio 1981-'90 uno stipite con caratteristiche sovrapponibili a quelli di più recente isolamento è stato rinvenuto per la prima volta nel 1989. Nel decennio successivo sono stati identificati ripetutamente stipiti di biotipo g, resistenti a trimetoprim e streptomina e in possesso di integroni di classe 2, con pulsotipi eterogenei, alcuni dei quali altamente correlati a quello mostrato dagli stipiti isolati negli anni 2001-'03. Pur con i limiti derivati da un campionamento non rappresentativo quale è quello basato su dati e stipiti ottenuti nell'ambito di un sistema di sorveglianza passiva, dai risultati del nostro studio sembra ipotizzabile che l'emergenza di stipiti di *S. sonnei* biotipo g dotati di un fenotipo-genotipo di resistenza in grado di conferire loro un vantaggio selettivo risalga nell'Italia meridionale alla fine degli anni '80.

## **P23 SIEROTIPI DI SALMONELLA IDENTIFICATI DA FONTE UMANA, ALIMENTARE E ANIMALE IN SICILIA, 2003-2005**

Caterina Mammina (a), Anna Maria Di Noto (b), Aurora Aleo (a), Ivana Guida (a), Antonella Costa (b), Cinzia Cardamone (b), Vincenzo Ferrantelli (b), Santo Caracappa (b)  
(a) CEPIM, Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo  
(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo

La sierotipizzazione è di fondamentale importanza per la sorveglianza passiva della circolazione di *Salmonella* e rende possibile tracciare, seppure a grandi linee, i trend temporali della prevalenza dei diversi sierotipi in un'area geografica e confrontarli con quelli di altri Paesi. Qui riportiamo le frequenze di identificazione dei sierotipi di *Salmonella* dalle fonti umana, alimentare e animale riferite agli ultimi anni. Gli stipiti da fonte umana sono pervenuti al CEPIM a cura dei responsabili dei Laboratori periferici ospedalieri e di Sanità pubblica, mentre quelli di origine alimentare e animale sono stati isolati presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia da campioni prelevati nel corso di attività di vigilanza e controllo, piani di sorveglianza e indagini epidemiologiche. In ambito umano, nell'arco del periodo di due anni in studio, si è confermata la predominanza di *Enteritidis* con più del 50% degli stipiti attribuiti a questo sierotipo, seguita da *Typhimurium* con una frequenza pari approssimativamente al 25%. Al terzo posto si conferma *Infantis*, circa 5% degli stipiti identificati. L'elevata frequenza di identificazione di *Enteritidis* è verosimilmente giustificata dalla stretta associazione con pietanze a base di uova consumate in sede di ristorazione collettiva o di comunità, ma anche in ambito domestico, con conseguenti episodi epidemici, anche misconosciuti. L'epidemiologia di *Typhimurium*, più spesso associata a casi apparentemente sporadici, invece, è resa più complessa dai molteplici possibili circuiti di trasmissione, non esclusivamente alimentari. Degni di nota, infine, tre stipiti di *S. typhi* isolati a Palermo nello stesso periodo sempre da soggetti extracomunitari. Tra le identificazioni da alimenti ad uso umano al primo posto in ordine di frequenza si colloca *Enteritidis*, 34,8%, seguita da *Infantis*, 15,1% e *Hadar*, 9,1%. Nella distribuzione dei sierotipi, ovviamente condizionata dalla tipologia dei prodotti esaminati, in cui predominano uova e pollame, è di particolare interesse, comunque, la notevole frequenza di *Infantis*. Quest'ultimo sierotipo, di recente insieme con *Hadar* identificato da uova, è stato isolato anche da tuorlo. Molto bassa risulta la frequenza di identificazione da questa fonte di *Typhimurium* (1,5%). Infine, i sierotipi identificati da fonte animale sono risultati molto eterogenei: su 53 stipiti isolati da animali d'allevamento e fauna selvatica sono stati identificati 12 sierotipi diversi con *Typhimurium* come sierotipo predominante.

## **P24 ISOLAMENTO DI ENTEROCOCCUS GALLINARUM VANB-VANC1 IN SICILIA**

Caterina Mammina (a), Anna Maria Di Noto (b), Antonella Costa (b), Ivana Guida (a), Antonino Nastasi (c)

(a) Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo

(c) Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze

È stata già riportata in letteratura l'acquisizione da parte di *E. gallinarum* ed *E. casseliflavus* di alti livelli di resistenza ai glicopeptidi *vanA*-mediati, mentre la presenza di *vanB* è stata descritta raramente soltanto in stipiti isolati da casi sporadici di infezione o colonizzazione nosocomiali. Nel gennaio 2005, nel corso di uno studio condotto in Sicilia sulla contaminazione delle carcasse di pollo da parte di microrganismi patogeni veicolati da alimenti, è stata effettuata anche la ricerca di enterococchi resistenti ai glicopeptidi (GRE). Da un campione sono stati identificati sia uno stipite di *E. faecium vanA* che uno stipite di *E. gallinarum* resistente ad alti livelli di vancomicina (CMI 64 µg/ml) e sensibile alla teicoplanina (CMI 1 µg/ml). Lo stipite di *E. gallinarum* è stato sottoposto a PCR multiplex seguita da digestione enzimatica del prodotto amplificato con *MspI* per identificare i determinanti di resistenza ai glicopeptidi. Questa metodica ha dimostrato la simultanea presenza dei determinanti *vanC1* e *vanB*. *E. gallinarum* e le altre specie di enterococchi "mobili" sono ritenuti una causa rara di infezioni umane. Tuttavia, il recente coinvolgimento di *E. gallinarum vanA-vanC1* in un episodio epidemico in una struttura assistenziale per lungo-degenti e l'identificazione di stipiti *vanB-vanC1* in alcuni pazienti trattati con cicli prolungati di glicopeptidi suggeriscono una revisione delle valutazioni fin qui generalmente accettate sul loro potenziale ruolo patogeno. Quello da noi riferito è il primo isolamento riportato in letteratura di *E. gallinarum vanB-vanC1* da pollame. I nostri risultati confermano la capacità da parte di questa specie di *Enterococcus* di catturare determinanti di resistenza ad alto livello ai glicopeptidi, probabilmente in condizioni di pressione selettiva che non consentono la sopravvivenza di stipiti con bassi livelli di resistenza intrinseca, come quelli codificati da *vanC1*. L'isolamento di *E. gallinarum vanB-vanC1*, con la simultanea presenza di *E. faecium vanA*, contribuisce, fornendo un interessante spunto di riflessione, al dibattito sul ruolo degli animali di allevamento come serbatoio di GRE e sulle cause della persistente elevata prevalenza di questi ultimi nel pollame in alcuni Paesi europei, nonostante il bando dell'uso dell'avoparcina da parte dell'Unione Europea abbia compiuto ormai otto anni. I risultati dello studio suggeriscono, inoltre, l'opportunità di un attento monitoraggio dei genotipi di resistenza ai glicopeptidi negli enterococchi mobili.

## **P25** INDAGINI LABORATORISTICHE NELLO STUDIO DI UN EPISODIO TOSSINFETTIVO DA *SALMONELLA TYPHIMURIUM*: IMPORTANZA DI UNA DETTAGLIATA CARATTERIZZAZIONE EZIOLOGICA

Paola Marconi (a), Rosa Maria Smaldone (a), Gianni Massai (a), Lucia Guazzini (a), Anna Paola Salinetti (b), Stefano Bilei (b), Ida Luzzi (c), Anna Maria Dionisi (c), Emma Filetici (c), Sergio Arena (c), Ildo Benedetti (c), Maria Giannotti (d), Francesca Serena (d), Paolo Filidei (d), Bruno Maranini (e)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana, Firenze*

(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana, Roma*

(c) *Dipartimento Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *AUSL 11 Empoli, Igiene Alimenti e Nutrizione, Empoli*

(e) *AUSL 11 Empoli Laboratorio di Microbiologia, Empoli*

Nel 2004 i presidi sanitari di una ASL toscana hanno evidenziato, nell'ambito territoriale di propria competenza, un aumento di casi clinici di enterite (57 contro 18 dell'anno precedente), concentrati nel periodo ottobre/novembre. I casi, apparentemente non correlati, interessavano prevalentemente pazienti in età pediatrica con un'eziologia comune, riferibile a *Salmonella typhimurium* (ST). La correlazione temporale, territoriale ed eziologica ha indotto il Dipartimento Igiene e Sanità Pubblica (ISP) ad ipotizzare una comune origine dei casi e intraprendere indagini epidemiologiche. Le interviste di 33 pazienti rivelavano una anamnesi alimentare significativa nel 33,3% dei casi, di cui il 63,6% riguardava bambini che riferivano consumo di salsiccia cruda. L'ISP ha esaminato i circuiti commerciali locali segnalati dai pazienti e la filiera produttiva nel territorio interessato. Le indagini eseguite su alimenti dall'IZS hanno rilevato ST in 3 prodotti finiti, 1 prodotto intermedio. Nessun rilievo da tamponi ambientali e tamponi rettali degli addetti alla lavorazione. L'ampia diffusione del sierotipo isolato e la mancanza di certezza causa/effetto nello studio del caso hanno reso necessario procedere alla caratterizzazione dei ceppi mediante fagotipizzazione, antibioticoresistenza e profilo di elettroforesi in campo pulsato (PFGE) di 34 ceppi di matrici alimentari e 13 ceppi umani. Sono stati identificati due principali fagotipi: NT (10 ceppi alimentari, 2 umani) e DT104L (24 ceppi alimentari, 11 umani), mostrando uniformità nel profilo PFGE. I ceppi NT mostravano profilo di tetreresistenza, quelli DT104L di pentaresistenza. Alimento sospettato e casi umani risultavano epidemiologicamente correlati solo nell'ambito dei ceppi di fagotipo DT104L. I ceppi alimentari corrispondevano a campioni prelevati in uno dei punti vendita segnalati dai pazienti e nel suo principale fornitore, con sede nella stessa zona. A quest'ultima corrispondevano anche ceppi dello stesso fagotipo isolati da 5 dei pazienti che confermavano corrispondenza tra alimento sospettato e consumato, oltre la specifica sede di acquisto. Lo stesso punto vendita aveva un secondo fornitore/produttore, di minore importanza, con sede in zona confinante, in cui erano stati identificati altri 2 casi umani. Anche in questo caso i ceppi isolati appartenevano al fagotipo DT104L, ma non è stata

riscontrata relazione tra pazienti ed eventuale acquisto diretto presso il produttore. Indagini sui fornitori di materie prime non hanno evidenziato elementi significativi. Approfondimenti genetici sui ceppi studiati potrebbero ulteriormente avvalorare queste ipotesi. Il presente studio intende evidenziare quanto la proficua collaborazione tra gli enti coinvolti e una dettagliata caratterizzazione eziologica producano utili informazioni nello studio dei casi di tossinfezioni alimentari.

## **CARATTERIZZAZIONE DI ROTAVIRUS UMANI CIRCOLANTI A BARI TRA IL 2001 E 2005: IDENTIFICAZIONE DI VIRUS ATIPICI P[14],G6**

Vito Martella (a), Eleonora Lorusso (a), Giuseppe Del Gaudio (b), Antonio De Santis (c), Serenella Arista (d), Michele Camero (a), Alessandra Cavalli (a), Nicola Decaro (a), Maria Tempesta (a), Canio Buonavoglia (a)

(a) *Dipartimento di Sanità e Benessere Animale, Università degli Studi di Bari*

(b) *Azienda Ospedaliera Policlinico, Istituto di Igiene II, Bari*

(c) *Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche, Presidio Ospedaliero San Paolo, AUSL BA/4, Bari*

(d) *Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi di Palermo*

I rotavirus di gruppo A sono virus ad RNA bicatenario segmentato (11 segmenti). I rotavirus sono importanti enteropatogeni umani e animali e sono classificati in G e P tipi sulla base delle proteine capsidiche VP7 e VP4. Sono sinora stati identificati e/o stabiliti 15 G tipi e 26 P tipi. Indagini epidemiologiche hanno evidenziato che i principali G tipi nei rotavirus umani (HRV) sono G1, G2, G3, G4 e G9, mentre i principali P tipi sono P[8], P[6] e P[4]. Sporadicamente si identificano virus umani con specificità antigeniche insolite, simili a quelle trovate nei rotavirus animali. In alcuni casi, tali virus possono assumere un ruolo epidemiologico di rilievo, come accade per gli stipiti P[11],G6 e P[11],G9 in India, i virus P[8],G5 in Sud America e i virus P[9],G6 in Ungheria. Inoltre, HRV atipici possono essere responsabili di ondate epidemiche, come accertato per i virus P[19],G9 in Manipur, India. In questo lavoro si descrivono i risultati di uno studio epidemiologico iniziato a Bari nel 2001. L'analisi di stipiti rotavirus identificati nelle feci di bambini con enterite ha messo in evidenza nel 2001-2002 la presenza di virus P[8],G9, considerati degli enteropatogeni emergenti, accanto ai virus P[8],G1, un dato che trova riscontro analogo in altre parti di Italia nello stesso periodo. Nel 2003, 2004 e 2005, oltre ai virus P[8],G1, sono stati identificati virus P[4],G2 e P[8],G4, mentre si è ridotta la frequenza dei virus P[8],G9. L'analisi dei campioni raccolti nel 2005 ha permesso inoltre di identificare due stipiti rotavirus inusuali, in quanto non tipizzabili mediante caratterizzazione con diversi set di primer G e P-tipo-specifici. L'analisi elettroforetica del genoma virale ha messo in evidenza un pattern di migrazione lungo, mentre l'analisi genetica della VP6 ha evidenziato un genogruppo I, caratteristiche inusuali per gli stipiti umani ma comuni nei virus animali. L'analisi di sequenza dei geni VP4 e VP7, ha permesso di caratterizzare i virus come P[14],G6. Stipiti HRV P[14],G6 sono stati descritti per la prima volta in Sicilia, negli anni ottanta. Nel resto del mondo, la segnalazione di questi virus è sporadica. Si ritiene che gli stipiti P[14],G6 abbiano avuto origine da virus animali mediante infezione eterologa dell'uomo e successivo adattamento. La recente identificazione di rari stipiti P[14],G6 e P[14],G8 nei ruminanti sembra confermare tale ipotesi. L'identificazione, a distanza di circa 17 anni dalla prima segnalazione, suggerisce che, seppure a bassa frequenza, i virus P[14],G6 continuano a circolare in Italia.

## ENTERITE NOSOCOMIALE DA NOROVIRUS IN PAZIENTI PEDIATRICI

Monica Martinelli, Maria Cristina Medici, Laura Anna Abelli, Maria Cristina Arcangeletti, Flora De Conto, Federica Pinardi, Carlo Chezzi, Giuseppe Dettori

*Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Università degli Studi di Parma*

I norovirus (famiglia *Caliciviridae*, genere norovirus) sono riconosciuti in tutto il mondo quale una delle principali cause di episodi epidemici e sporadici di enterite acuta sia nei bambini che negli adulti e costituiscono un rilevante problema di sanità pubblica. All'inizio di febbraio 2004 presso l'Unità Operativa di Virologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma sono state osservate nello stesso giorno alla microscopia elettronica (ME) particelle calicivirus-simili in 2 campioni di feci (in un caso associate a particelle reovirus-simili) appartenenti ad altrettanti piccoli pazienti colpiti da enterite alcuni giorni dopo il ricovero per patologie a carico di apparati diversi dall'intestino. Per verificare la presenza nei reparti pediatrici di un possibile focolaio epidemico di enterite da norovirus, è stata condotta la ricerca dell'RNA virale mediante RT-PCR sui campioni di feci appartenenti a pazienti pediatrici ricoverati con sindrome gastroenterica acuta e pervenuti presso l'Unità Operativa di Virologia per indagini virologiche (ME e coltura cellulare) nel periodo 1° gennaio-29 febbraio 2004. Lo studio è stato condotto in parte retrospettivamente e in parte in modo prospettico rispetto al ritrovamento iniziale di particelle calicivirus-simili alla ME. Di 97 bambini esaminati, 33 (34%) hanno rivelato la presenza di rotavirus, 3 (3,1%) di adenovirus, 20 (20,6%) di norovirus, 1 (1%) di rotavirus associato ad adenovirus, 3 (3,1%) di rotavirus associato a norovirus e 2 (2,1%) di rotavirus associato ad adenovirus e norovirus. Nell'ambito di 25 bambini norovirus-positivi, in 9 casi, inclusi i primi due sospetti di infezione nosocomiale, l'enterite è comparsa almeno 48 ore dopo il ricovero per altre patologie e in 7 di questi casi è possibile ritenere che norovirus da solo sia stato la causa dell'enterite. L'analisi delle sequenze dei ceppi virali rivelati ha dimostrato che tutti tranne due (1 di genotipo Bristol/Lordsdale e uno non sequenziabile) appartenevano al genotipo GIIB. Nell'ambito di questi ultimi, quelli responsabili dell'episodio nosocomiale erano riconducibili a 4 ceppi, dei quali 3 si sono dimostrati identici a quelli rivelati in bambini ricoverati per enterite da norovirus nei giorni precedenti. Gli autori concludono evidenziando l'importanza epidemiologica dell'infezione nosocomiale sostenuta da norovirus e suggeriscono che una diagnosi rapida e precoce di infezione è indispensabile per ridurre la diffusione dell'enterite nei reparti pediatrici attraverso il tempestivo rafforzamento delle misure di controllo.

## ENTERITE FATALE DA ROTAVIRUS IN DUE BAMBINI

Maria Cristina Medici (a), Monica Martinelli (a), Domenico Corradi (b), Roberto Ricci (b), Maria Francesca Del Sante (c), Icilio Dodi (d), Alessandro De Fanti (d), Laura Anna Abelli (a), Laura Zerbini (a), Maria Cristina Arcangeletti (a), Federica Pinardi (a), Flora De Conto (a), Annalisa Aloisi (a), Giuseppe Dettori (a), Carlo Chezzi (a)

(a) *Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma*

(b) *Sezione di Anatomia e Istologia Patologica, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Università degli Studi di Parma*

(c) *Sezione di Medicina Legale, Dipartimento di Anatomia Umana, Farmacologia e Scienze Medico Forensi, Università degli Studi di Parma*

(d) *Unità Operativa di Pediatria e Oncematologia, Dipartimento Materno-Infantile, Azienda Ospedaliero Universitaria di Parma, Università degli Studi di Parma*

Si stima che l'enterite acuta da rotavirus umano (HRV) causi annualmente in bambini di età inferiore a 5 anni almeno 800.000 decessi nei paesi in via di sviluppo e almeno 500.000 visite mediche negli Stati Uniti. In questo studio, viene descritto il ritrovamento di HRV durante un eccezionale periodo epidemico di infezione in un liquido da svuotamento intestinale e un campione di feci appartenenti ad un bambino di 2 anni e ad un altro di 13 mesi, rispettivamente, entrambi deceduti in seguito ad enterite. Il virus è stato rivelato mediante microscopia elettronica, identificato mediante agglutinazione al lattice ed elettroforesi degli RNA gnomici e tipizzato mediante RT-PCR utilizzando miscele di primers specifiche per il gene VP4 e VP7. I casi fatali di enterite si sono verificati nell'arco di 4 giorni nel mese di aprile, quando l'incidenza di infezione da HRV in bambini ricoverati con enterite è stata del 65,3%. Il decesso è avvenuto per shock dovuto a squilibrio elettrolitico, in un caso durante il trasporto all'ospedale e nell'altro dopo meno di 72 ore dal ricovero. L'esame istologico di campioni di intestino prelevati in corso di autopsia ha evidenziato un intenso e diffuso infiltrato infiammatorio linfo-plasmacellulare della *lamina propria* con estesa disepitelizzazione e decapitazione dell'apice di alcuni villi. La genotipizzazione ha dimostrato trattarsi in entrambi i casi di ceppi di genotipo G1, P[8] osservato nel 39,3% di quelli rivelati da inizio aprile a fine maggio, circa un mese prima e uno dopo i due episodi fatali. L'analisi elettroforetica ha evidenziato profili genomici "lungi" appartenenti allo stesso elettroferotipo risultato prevalente (92,5%) nell'ambito dei ceppi rivelati nei bambini (età mediana 22 mesi) ricoverati con enterite presso l'Ospedale Maggiore di Parma da gennaio a maggio 2005. Sebbene i bambini morti a Parma per enterite da HRV rappresentino casi eccezionali durante un periodo epidemico altrettanto straordinario, l'infezione da HRV in bambini di età <5 anni rimane un rilevante problema di sanità pubblica. Alla base della patogenesi dell'enterite fatale sostenuta da HRV sembra esserci l'ampia estensione del danno all'intestino.

## **VALUTAZIONE DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-NET PUGLIA ATTRAVERSO IL METODO CAPTURE-RECAPTURE**

Giorgia Mirabella (a), Maria Sodano (a), Lorenzo Dell'Aquila (a), Domenico Martinelli (a), Giovanni Caputi (a), Caterina Rizzo (b), Danila De Vito (b), Giovanni Rizzo (a,b)  
(a) *Scuola di Specializzazione Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Bari*  
(b) *Centro di Riferimento Regionale Enter-net Puglia, Bari*

Un Sistema di Sorveglianza (SS) consiste nella raccolta, analisi e divulgazione di dati epidemiologici ed è sempre finalizzato alla realizzazione di interventi di Sanità Pubblica. Al fine di valutare l'efficienza dei SS presenti sul territorio regionale, per la sorveglianza delle Salmonellosi, sono stati messi a confronto il Sistema Informatizzato delle Malattie Infettive (SIMI) e il sistema di sorveglianza degli Enterobatteri patogeni Enter-net. Sono state utilizzate per definire il livello di sovrapposizione dei due sistemi le notifiche di classe II di Salmonellosi non tifoidea pervenute attraverso il SIMI e le segnalazioni pervenute ad Enter-net da parte dei Laboratori ospedalieri della Regione Puglia dal gennaio 2002 al giugno 2005. Per valutare la sensibilità dei due SS è stata utilizzata la tecnica del *capture-recapture*. Per individuare i casi segnalati in entrambi i sistemi sono stati utilizzati nome, cognome e data di nascita del paziente insieme alla data di notifica. Sono pervenute complessivamente ai due SS 1.915 segnalazioni. Il 17% dei casi totali era stato segnalato in entrambi i sistemi. Ciascun SS, preso singolarmente, ha dimostrato sensibilità superiore al 40% e specificatamente per Enter-net è risultata pari al 54% e per il SIMI pari al 47%. Unendo insieme le segnalazioni di entrambi i SS, nel periodo considerato, la sensibilità totale ha superato il 100%. In totale le segnalazioni pervenute al sistema Enter-net (1.016) sono state maggiori rispetto a quelle del sistema SIMI (899). Il livello di sovrapposizione dei due sistemi per singolo anno è stato sempre al di sotto del 30%, ma anche se tale valore risulta essere basso, ciascun sistema contribuisce notevolmente ad integrare le mancanze esistenti. La sensibilità di ciascun sistema, preso singolarmente, è risultata elevata (>40%) se ci riferiamo al sistema Enter-net la sensibilità incrementa ulteriormente (54%). L'applicazione di questa metodologia ha permesso di stimare i livelli di sottonotifica del fenomeno salmonellosi in Puglia e sarebbe auspicabile l'integrazione dei due sistemi per intraprendere le misure preventive e di contenimento del fenomeno da parte del Sistema Sanitario.

## **PRESENZA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN PRODOTTI ITTICI AFFUMICATI: INDAGINE QUALITATIVA E QUANTITATIVA A FONDAMENTO DI UNA CORRETTA ANALISI DEL RISCHIO**

Ludwig Moroder (a), Agostino Carli (b)

(a) Agenzia Provinciale Protezione e Ambiente, Laboratorio Biologico, Bolzano

(b) Servizio Veterinario, Azienda Sanitaria di Bolzano

Numerosi lavori in letteratura indicano la presenza di *Listeria monocytogenes* in prodotti ittici affumicati, in particolare nel salmone. Allo scopo di raccogliere elementi utili per la valutazione del rischio, anche alla luce dei nuovi limiti stabiliti a livello europeo, si rende necessario abbinare alla ricerca qualitativa anche una determinazione quantitativa del potenziale patogeno. Inoltre, per definire le caratteristiche di stabilità del prodotto nel tempo, è utile la misura del valore di pH e dell'attività dell'acqua. Sono stati prelevati alla distribuzione 49 campioni di prodotti ittici affumicati, di varia tipologia (acciughe, aringhe, anguilla, salmerino, salmone, sgombre, pesce spada, tonno, trota) con prevalenza del salmone (33 campioni). Ciascun campione è stato analizzato in doppio, prelevando da due parti diverse della confezione originale le due porzioni necessarie per eseguire le analisi separatamente. Su ciascuna porzione per un totale di 98 campioni sono state eseguite le analisi per la ricerca e per la conta di *Listeria monocytogenes* secondo le norme ISO 11290 parti 1 e 2 ed è stato determinato il valore di pH e quello dell'attività dell'acqua. È stata anche evidenziata la presenza di specie di *Listeria* diverse da *L. monocytogenes*. Trentotto campioni (78%) non hanno rilevato la presenza di *Listeria monocytogenes*. In 6 campioni (13%) è stata isolata *Listeria monocytogenes* in una sola replica, mentre in 5 campioni (10%) entrambe le repliche sono risultate positive. Tutti i campioni positivi riguardavano il salmone affumicato. L'analisi quantitativa eseguita ha sempre evidenziato una presenza di *L. monocytogenes* inferiore al limite di sensibilità del metodo (<10). *Listeria grayi* è stata isolata da una replica di salmone; cariche significative di *L. innocua* sono state riscontrate in un campione di anguilla fresca mentre cariche elevate fino a 26.000 ufc/g di *L. seeligeri* sono state trovate in un campione di filetti di trota. L'attività dell'acqua era compresa fra 0,93 e 0,99, con valori di pH compresi fra 5,60 e 6,48. L'indagine ha confermato la presenza non infrequente di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato come descritto in letteratura. Le cariche riscontrate nei campioni positivi sono sempre risultate molto basse, sotto il limite di rilevabilità del metodo, nonostante l'attività dell'acqua e il valore di pH non siano tali da garantire una stabilità interna del prodotto. Alla luce dei nuovi criteri stabiliti a livello europeo, che accettano valori fino a 100 ufc/g di *L. monocytogenes* alla distribuzione, il rischio per il consumo di prodotti ittici affumicati è da ritenersi basso.

## **P26 CARATTERIZZAZIONE DI ROTAVIRUS DELLA STARNA (*PERDIX PERDIX*) E DEL FAGIANO (*PHASIANUS COLCHINUS*) IDENTIFICATI IN CORSO DI ENTERITE**

Maria Vittoria Murgia (a), Monica Cerioli (a), Elena Catelli (b), Antonio Lavazza (a)  
(a) *Reparto Virologia Specializzata, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia*  
(b) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Facoltà Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bologna*

I Rotavirus, virus ad RNA responsabili di gravi patologie post-natali in mammiferi e uccelli, vengono distinti in sette sierogruppi (A-G) sulla base delle caratteristiche antigeniche della proteina capsidica VP6 e altrettanti elettroferogruppi (A-G) sulla base della mobilità elettroforetica, su gel di poliacrilamide, degli 11 segmenti di RNA a doppia catena. All'interno di ogni elettroferogruppo, minime variazioni nella mobilità elettroforetica dei segmenti genomici permettono l'identificazione di distinti pattern di migrazione (elettroferotipi). La presenza di Rotavirus in focolai di enterite nella starna e nel fagiano è stata evidenziata alla microscopia elettronica alla fine degli anni '80. Durante il periodo 2003-2005 sono stati conferiti ed esaminati 88 campioni di feci e intestino, di cui 33 di starna e 55 di fagiano, provenienti da focolai di enterite. I soggetti colpiti avevano un'età compresa tra 3 giorni e 3 settimane e provenivano da diversi allevamenti del nord e del centro Italia. I campioni sono stati esaminati mediante microscopia elettronica in colorazione negativa (metodo Airfuge) e tutti quelli positivi per Rotavirus, in aggiunta a 22 ceppi di collezione di rotavirus di starna, relativi a focolai di enterite dal 2.000 al 2002, sono stati sottoposti ad elettroforesi dell'RNA virale, su gel di poliacrilamide, al fine di determinarne elettroferogruppo ed elettroferotipo. Sono risultati positivi per Rotavirus alla microscopia elettronica 29 (52%) campioni di fagiano e 16 (49%) di campioni di starna mentre è stata possibile la tipizzazione molecolare su gel di poliacrilamide di 18 campioni di fagiano e di 15 campioni di starna. Per quanto concerne i campioni di fagiano, 5 sono risultati appartenere al gruppo D, 10 al gruppo A, 3 mostravano un pattern atipico. Tutti i campioni tipizzati, provenienti da aziende diverse, mostravano differenti elettroferotipi. Per quanto concerne i campioni di starna, 5 sono risultati appartenere al gruppo D, 9 al gruppo A aviare e 1 al gruppo A di mammifero. All'interno dei campioni di gruppo D è stato possibile identificare 2 distinti elettroferotipi. Tra i campioni di gruppo A sono stati identificati 4 diversi elettroferotipi e, quale elemento caratterizzante, in tutti si è notata la co-migrazione dei segmenti 10 e 11. Gli elettroferotipi di fagiano sono risultati diversi da quelli identificati nella starna anche quando provenienti da una medesima azienda. Questo lavoro è parte integrante di un progetto che mira alla caratterizzazione dei ceppi di rotavirus aviari e alla definizione di eventuali correlazioni con gli stipiti isolati da mammiferi.

## **P27 GENOTIPIZZAZIONE MEDIANTE AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM E SIEROTIPIZZAZIONE DI STIPITI DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLATI DA FONTI AMBIENTALI E DA ALIMENTI**

Antonio Parisi, Laura La Torre, Angela Miccolupo, Nicoletta Nuzzolese, Maria Natale, Gianfranco Santagada

*Istituto Zooprofilattico della Puglia e della Basilicata, Putignano, Bari*

Il ruolo degli alimenti come via principale della trasmissione di *Listeria monocytogenes*, agente causale della listeriosi nell'uomo, è stato riconosciuto solo recentemente. *L. monocytogenes* infetta principalmente i bambini e gli individui immunocompromessi causando gravi malattie come setticemia, encefalite e meningite; è responsabile di aborto e natimortalità nelle donne gravide; causa inoltre forme gastro-intestinali. L'infezione origina con la colonizzazione del tratto gastro-enterico da dove il microrganismo raggiunge il fegato, principale sito di replicazione, per dare infine origine a setticemia con il coinvolgimento di diversi organi, principalmente sistema nervoso centrale e utero gravido. La progressione dell'infezione dipende da numerosi fattori legati sia alla virulenza dei singoli stipiti batterici che allo stato immunitario dei pazienti colpiti. Sebbene la fonte e la via di infezione rimangano spesso ignote, l'associazione di *L. monocytogenes* con recenti epidemie di tossinfezione alimentare suggerisce che gli alimenti contaminati, quali carni, prodotti lattiero-caseari, vegetali e prodotti ittici, possano rappresentare la fonte principale di contaminazione. L'ampia diffusione di tale microrganismo nell'ambiente e negli animali, così come il diverso comportamento patogeno nei soggetti colpiti, impongono l'adozione di sistemi di tipizzazione dei diversi isolati per la comprensione dell'epidemiologia dell'infezione. La sierotipizzazione e la fagotipizzazione sono state largamente utilizzate per la caratterizzazione di *L. monocytogenes*, anche se attualmente sono disponibili metodiche molecolari, come la ribotipizzazione, la *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), l'*Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), in grado di garantire una maggiore capacità di discriminazione. In questo studio si è proceduto alla standardizzazione della tecnica di AFLP per la genotipizzazione di *L. monocytogenes* utilizzando una combinazione di due enzimi di restrizione Hind III e Hha I. Inoltre 132 stipiti di *L. monocytogenes*, isolati da fonti ambientali e da alimenti, sono stati caratterizzati mediante sierotipizzazione e AFLP. Come osservato in studi precedenti, nell'ambito di *L. monocytogenes* è possibile individuare due genogruppi nettamente distinti, nel nostro caso la percentuale di similarità riscontrata mediante AFLP era pari al 48,4%. La suddivisione nei due cluster era coerente con i sierotipi osservati. Il primo comprendeva esclusivamente stipiti di sierotipo 1/2a, 3a, 1/2c; nel secondo cluster invece venivano raggruppati isolati di sierotipo 1/2b, 3b, 4b. Inoltre era possibile individuare diversi profili AFLP nell'ambito del singolo sierotipo a testimonianza di un maggiore potere discriminante della tecnica AFLP che potrebbe pertanto costituire un ottimo strumento di investigazione epidemiologica nello studio della ecologia di tale microrganismo.

*Ricerca corrente – Ministero della Salute IZS PB 004/01*

## **P28** CONFRONTO DI DIVERSI PROTOCOLLI DIAGNOSTICI PER LA IDENTIFICAZIONE DEI PRINCIPALI FATTORI DI VIRULENZA (TDH, TRH) IN STIPITI DI *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*

Antonio Parisi (a), Vincenza Miracapillo (a), Donatella Ottaviani (b), Laura Masini (b), Paola De Santis (c), Stefano Bilei (c), Cosimo Montagna (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Puglia e Basilicata, Unità Operativa Putignano, Bari

(b) Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche, Ancona

(c) Istituto Zooprofilattico delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

I prodotti ittici, e soprattutto i molluschi eduli lamellibranchi sono ritenuti tra gli alimenti più frequentemente implicati in episodi o in focolai di tossinfezione alimentare, in particolare nelle regioni in cui persiste la radicata tradizione di consumarli allo stato crudo. I microrganismi del genere *Vibrio* sono normalmente presenti negli ecosistemi idrici, per cui risultano frequentemente associati ai prodotti della pesca. Tra questi, *Vibrio parahaemolyticus* è ritenuto responsabile di numerosi episodi infettivi conseguenti al consumo di tali alimenti. In uno studio epidemiologico condotto nella regione Puglia sui molluschi eduli lamellibranchi, noi abbiamo riscontrato percentuali di contaminazione da *V. parahaemolyticus* pari a circa l'8% dei campioni esaminati. Due principali fattori di virulenza, TDH (Thermostable Direct Haemolysin) e TRH (*Thermostable Related Haemolysin*) sono stati correlati alla patogenicità di *V. parahaemolyticus*. Mentre l'emolisina TDH presenta una sequenza conservata, con il termine TRH si indica una famiglia di tossine geneticamente correlate. In bibliografia sono stati pubblicati diversi sistemi di identificazione di tali target genetici, e recentemente un protocollo diagnostico è stato suggerito dal Ministero della Salute per la loro identificazione in ceppi di origine alimentare. Lo scopo di questo lavoro era verificare la diffusione dei geni che codificano per tali emolisine in stipiti isolati da alimenti ittici, utilizzando diverse procedure diagnostiche molecolari (PCR). Complessivamente sono stati analizzati 71 ceppi di *V. parahaemolyticus* isolati da alimenti ittici. Il DNA estratto è stato sottoposto separatamente a diversi test di PCR utilizzando differenti combinazioni di primer. I risultati ottenuti hanno mostrato una certa discordanza; mentre tutti i ceppi sono risultati costantemente negativi per il gene *tdh* a prescindere dal protocollo utilizzato, 4 (5,6%) stipiti sono risultati positivi esclusivamente ad uno dei test PCR per *trh*. I frammenti amplificati sono stati purificati e sottoposti a sequenziamento diretto. Le sequenze ottenute sono state allineate in Genbank per la conferma. I risultati di questo studio confermano, come osservato in studi precedenti, una bassa prevalenza dei principali fattori di virulenza negli isolati ambientali, rispetto a quanto segnalato negli stipiti di isolamento clinico. Inoltre, sottolineano come la variabilità genetica di tali target debba essere tenuta in considerazione nella adozione dei test molecolari al fine di identificare tutte le varianti delle emolisine ed evitare una sottostima dei ceppi positivi.

## **P29** CARATTERIZZAZIONE TASSONOMICA ED EPIDEMIOLOGICA DI *VIBRIO* *PARAHAEMOLYTICUS* MEDIANTE AMPLIFIED FRAGMENT LENGHT POLYMORPHISM

Antonio Parisi (a), Natalia Paglionico (a), Cosimo Montagna (a), Donatella Ottaviani (b),  
Laura Masini (b), Antonella Susca (c), Dorianò Chiocco (a)

(a) Istituto Zooprofilattico della Puglia e della Basilicata, Putignano, Bari

(b) Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche, Ancona

(c) Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Centro Nazionale delle Ricerche, Bari

*Vibrio parahaemolyticus* è un microrganismo alofilo, normalmente presente nelle acque marine e frequentemente associato ai molluschi filtratori. Alcuni stipiti risultano patogeni per l'uomo e possono essere responsabili di malattia gastro-intestinale conseguente al consumo di alimenti ittici, in particolar modo se consumati senza un trattamento termico preventivo. Il microrganismo è responsabile di numerosi episodi nel sud-est asiatico e negli ultimi anni ha suscitato l'interesse dei ricercatori negli Stati Uniti per il crescente numero di casi associati al consumo di ostriche crude, causati da un nuovo sierotipo emergente: O3:K6. La possibilità che alcuni cloni patogeni, adattati particolarmente a dare malattia nell'uomo, possano diffondersi causando delle vere e proprie pandemie, rende indispensabile la standardizzazione di sistemi di tipizzazione in grado di caratterizzare gli isolati in corsi di focolai di tossinfezione alimentare o di aggiungere informazioni relative all'ecologia di questi microrganismi negli ambienti marini. Numerose tecniche sono state descritte per la genotipizzazione di *Vibrio spp.*: *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE), *Ribotyping*, *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequenze* (ERIC PCR), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Questi metodi differiscono nella capacità di discriminazione, nella riproducibilità, nella semplicità di standardizzazione e interpretazione. Una delle tecniche più efficaci per condurre studi epidemiologici basati sulla caratterizzazione genetica dei microrganismi è l'*Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). In questo studio abbiamo standardizzato una procedura AFLP utilizzando una combinazione di enzimi di restrizione Eco RI e Mse I e inoltre abbiamo tipizzato 94 stipiti di *V. parahaemolyticus* isolati in Italia. Al fine di verificare la efficacia del protocollo AFLP per scopi tassonomici, sono stati inseriti nello studio 19 stipiti di collezione (ATCC) appartenenti a 16 diverse specie di *Vibrio*. La procedura da noi adottata era in grado di raggruppare correttamente tutti i ceppi di *V. parahaemolyticus* con un valore di similarità pari a 66,85%, inoltre era in grado di discriminare tutti gli stipiti appartenenti alle altre specie. A testimonianza delle buone capacità di discriminazione numerosi profili di fingerprinting sono stati identificati nell'ambito della specie *V. parahaemolyticus*. Le buone caratteristiche di discriminazione e la ottima riproducibilità rendono questo metodo un interessante strumento per la tipizzazione genetica di *V. parahaemolyticus*.

## GENOTIPIZZAZIONE E DETERMINAZIONE DI ALCUNI FATTORI DI VIRULENZA IN *CAMPYLOBACTER JEJUNI* ISOLATI DA UOMO, POLLAME E BOVINI

Antonio Parisi (a), Roldano Sottili (a), Carmen Bonanno (b), Alberto Spanò (b), Giovanni Normanno (c), Carmine Pedarra (a), Dorianò Chiocco (a)

(a) Istituto Zooprofilattico della Puglia e della Basilicata, Putignano, Bari

(b) Unità di Microbiologia e Virologia, Ospedale S. Pertini, Roma

(c) Dipartimento di Sanità e Benessere Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari

I batteri del genere *Campylobacter*, in particolare *C. jejuni* e *C. coli*, rappresentano una delle più importanti cause di infezione gastro-intestinale nei paesi sviluppati. La campylobacteriosi è considerata una zoonosi. Gli alimenti contaminati, in particolare le carni di pollame poco cotte sono ritenute la fonte principale di infezione per l'uomo anche se numerose altre specie possono albergare il microrganismo a livello enterico. Non è chiaro se la responsabilità del pollame nella diffusione di tale microrganismo sia connessa alle particolari tecniche di allevamento, macellazione e consumo di tali animali o se invece risieda in particolari caratteristiche genetiche degli stipti che colonizzano il loro intestino. Uno degli obiettivi principali degli studi condotti negli ultimi anni è la individuazione di un sistema di caratterizzazione in grado di fornire elementi utili al riconoscimento degli stipti patogeni. A tal fine sono state standardizzate numerose tecniche di genotipizzazione, tra queste una delle più discriminanti è l'*Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). Inoltre sono stati individuati numerosi target genetici correlati alla virulenza di tali microrganismi. Lo scopo del presente studio era effettuare una comparazione genetica di 155 stipti di *C. jejuni* isolati da casi clinici (n=53), pollame (n=78) e bovini (n=24). Tali ceppi sono stati selezionati preliminarmente in accordo con le informazioni epidemiologiche e la caratterizzazione genetica (AFLP) e inoltre sono stati valutati per verificare la presenza dei geni codificanti per le 3 frazioni della *Cytolethal distending toxin* (CdtA, CdtB, CdtC), principale fattore ad azione citotossica, dei geni *cadF*, *racR*, *dnaJ* correlati alle capacità di colonizzazione intestinale, dei geni *ciaB*, *virB11*, correlati alla invasività e infine del gene *wlaN* che codifica per un determinante del LPS di superficie presumibilmente correlato allo sviluppo della sindrome di Guillain Barré. Un elevato livello di prevalenza complessiva si riscontrava per i geni *cdtA* (99,3%), *cdtB* (100%), *cdtC* (95,5%), *cadF* (99,3%), *racR* (98,0%), *dnaJ* (96,8%), mentre molto meno diffusi risultavano il plasmide *virB11* (1,9%), il gene *ciaB* (46,4%) e *wlaN* (16,1%). I dati ottenuti non consentivano di individuare nessuna differenza statisticamente significativa in base alle specie di isolamento. I profili AFLP consentivano di identificare differenti genotipi di *C. jejuni* alcuni parzialmente condivisi da stipti umani e animali senza alcuna correlazione epidemiologica. La elevata prevalenza dei fattori di virulenza e tossici oggetto di studio dimostrava che questi sono molto diffusi tra le diverse popolazioni di *C. jejuni* a prescindere dalla specie di isolamento e indicherebbe che non esistono al momento marker di virulenza e genetici in grado di differenziare gli stipti patogeni.

## **P30** CARATTERIZZAZIONE DI CEPPI DI *E. COLI* ISOLATI DA CONIGLI CON SINTOMATOLOGIA ENTERICA. RISULTATI PRELIMINARI

Donato Pennelli (a), Antonio Camarda (b), Silvia Tagliabue (a), Elena Circella (b), Mario D'Incau (a), Giordano Bruni (b), Antonio Lavazza (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia

(b) Dipartimento di Sanità e Benessere Animale, Università degli Studi di Bari

Le colibacillosi sono la causa più frequente di malattia negli allevamenti cunicoli intensivi. I ceppi responsabili di malattia appartengono al patotipo definito REPEC (Rabbit enteropathogenic *E. coli*), la cui attività patogenica è basata prevalentemente sulla formazione di un complesso intimina-TIR (*Translocated Intimin Receptor*), il quale consente al microrganismo di aderire alla mucosa intestinale e distruggerne i microvilli. Gli stipiti di *Escherichia coli* isolati dal coniglio e che possiedono queste caratteristiche di patogenicità, riconducibili essenzialmente alla sintesi batterica di alcune proteine (intimina, AF/R1, AF/R2), sono ulteriormente distinti in un sottogruppo denominato *Attaching Effacing Escherichia coli* (AEEC). La caratterizzazione dei geni che codificano per tali proteine viene ritenuta indicativa della potenzialità patogena del germe isolato. In questo studio vengono riportati i risultati preliminari delle prove di tipizzazione sierologica, biochimica e molecolare (caratterizzazione dell'intimina), effettuate su n. 29 ceppi di *Escherichia coli* isolati da conigli con enterite, provenienti da allevamenti intensivi di Puglia e Basilicata. I sierotipi O10, O20, O73, O103 e O141 sono stati riconosciuti fra quelli di più frequente riscontro, rappresentando il 58,8% dei ceppi tipizzati, con una larga prevalenza sugli altri evidenziati (O2, O8, O11, O17, O49, O85, O157); la percentuale dei non tipizzabili è stata del 41,4%. Il gene *eae* è stato rilevato in 10 (34,5%) dei ceppi di *E. coli* testati. In 3 casi è stato possibile associare un sierotipo (O2, O20, O49) alla evidenziazione del gene; inoltre, in due casi è stato possibile associare un biotipo ramnosio negativo (9, 15), indice di sicura patogenicità del ceppo isolato, ad un determinato sierotipo (O73). Le prove di biotipizzazione, effettuate su 28 ceppi, hanno consentito di individuare 13 diversi biotipi, 4 dei quali ramnosio negativi (rispettivamente biotipo 2, 9, 12, 15) e 9 ramnosio positivi (biotipo 16, 17, 18, 21, 27, 28, 29, 30, 31). Il biotipo 28 e il biotipo 30, entrambi ramnosio positivi, hanno manifestato una distribuzione prevalente negli allevamenti campionati, rappresentando rispettivamente il 28,6% e il 14,3% dei ceppi sottoposti a tipizzazione biochimica. Ai biotipi 28 e 12 sono risultati appartenere rispettivamente il 40% e il 20% dei ceppi *eae* positivi; nel complesso, il gene *eae* è stato evidenziato nel 40% dei ceppi ramnosio negativi e nel 28,8% di quelli ramnosio positivi. In conclusione, i risultati di questa prima indagine permettono di segnalare ancora una volta il fondamentale ruolo svolto dai fattori di patogenicità nello sviluppo delle colibacillosi negli allevamenti cunicoli.

## **P31 VALUTAZIONE DELLA SENSIBILITÀ *IN VITRO* AGLI ANTIMICROBICI, RICERCA DEI FATTORI DI VIRULENZA E DI GENI RESPONSABILI DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGENI ISOLATI DA CONIGLIO**

Anna Giannina Perugini (a), Anna Cerrone (a), Fabrizio Agnoletti (b), Lorella Barca (a), Elena Mazzolini (c), Giovanni Cattoli (d), Vincenzo Caligiuri (a), Mario Bartoli (a), Federico Capuano (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Treviso

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Campoformido, Udine

(d) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

Le infezioni da *Escherichia coli* enteropatogeni (EPEC) rappresentano una frequente causa di patologie gastro-intestinali nel coniglio. In questo studio per la prima volta ceppi REPEC (*Rabbit Enteropathogenic, Escherichia coli*) sono stati analizzati sia per la sensibilità *in vitro* ad alcuni antimicrobici, comunemente usati in medicina veterinaria, sia per la presenza di alcuni dei determinanti genetici di resistenza agli antibatterici potenzialmente trasferibili ad altri patogeni. I saggi di sensibilità sono stati eseguiti mediante la tecnica di diffusione in agar (Kirby-Bauer), secondo le procedure della *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). La PCR è stata utilizzata sia per la ricerca di alcuni fattori di patogenicità (*eae*, AF/R1, AF/R2) che di alcuni dei geni responsabili della resistenza: al trimetoprim (*dhfrI*, *dhfrV*, *dhfrVII*, *dhfrIX*, *dhfrXIII*), ai sulfamidici (*sul1* e *sul2*), alla gentamicina [*aadB*, *aac2*, *aac(3)-IV*], alla neomicina (*aphA1*, *aphA2* e *aadB*) e all'apramicina [*aac(3)-IV*]. Negli isolati analizzati, i livelli di resistenza più elevati si evidenziano verso: ossitetraciclina (96%), doxiciclina (86,9%), gentamicina (56%), neomicina (52,5%), sulfametoxazolo-trimetoprim (51,5%), apramicina (43,9%). Dei 198 ceppi analizzati per la presenza dei fattori di virulenza, 129 sono risultati positivi per *eae* (65,2%), 114 per AF/R2 (57,6%), 15 per AF/R1 (7,6%), questi ultimi isolati tutti dallo stesso allevamento. Dei geni correlati alla resistenza al trimetoprim indagati, invece, i più diffusi risultano *dhfrIX* (43,4%), *dhfrVII* (23,7%) e *dhfrI* (21,2%), mentre i geni associati all'acquisizione della resistenza ai sulfamidici, *sul1* e *sul2*, risultano presenti rispettivamente nel 44,4% e 51% degli isolati. Ottantasette dei 198 ceppi analizzati (43,9%) risultano positivi per il gene *aac(3)-IV*, associato alla resistenza alla gentamicina e all'apramicina, mentre meno del 10% degli isolati risulta positivo per differenti geni indagati associati alla resistenza alla neomicina, benché 104 degli isolati manifestino resistenza *in vitro* a tale antibiotico. Tale risultato, si può spiegare considerando che alcuni dei geni analizzati, ad es. *aadB*, sebbene conferiscano resistenza a più molecole della stessa famiglia (neomicina e gentamicina), sono solo una piccola rappresentanza del *cluster* di determinanti genetici in grado di conferire resistenza a diversi amminoglicosidi. I risultati ottenuti suggeriscono di estendere l'analisi dei geni di resistenza agli antimicrobici, ovvero di continuare il monitoraggio degli EPEC, non solo in funzione della loro nota patogenicità, ma anche in quanto potenziale serbatoio di geni di resistenza trasferibili ad altri organismi della microflora intestinale del coniglio.

## LA SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE INFETTIVE IN LOMBARDIA: REVISIONE DELLE PROCEDURE E INTEGRAZIONE CON LA RETE ENTER-NET

Mirella Pontello (a), Anna Pavan (b), Maria Gramigna (b), Maria Teresa Pilla (c) Maria Agnese Ulissi (d)

(a) *Istituto di Igiene, Università degli Studi di Milano;*

(b) *Unità Operativa Prevenzione, Tutela Sanitaria e Veterinaria, Direzione Generale Sanità, Regione Lombardia, Milano*

(c) *Laboratorio di Sanità Pubblica, ASL Provincia di Milano 1, Milano*

(d) *Laboratorio di Sanità Pubblica, ASL, Varese*

Con specifico provvedimento - DGR 18853 del 30/9/2004- la Regione Lombardia ha revisionato il proprio sistema di sorveglianza, notifica e controllo delle malattie infettive, prevedendo un maggior approfondimento dell'indagine epidemiologica così da poter classificare i casi secondo le Direttive Europee in materia. In particolare, per quanto riguarda le malattie da enterobatteri, si è previsto che ogni caso sintomatico sia accompagnato dai dati delle relative analisi microbiologiche e da approfondimenti sulle esposizioni e possibili modalità di contagio. In tal senso si rivela necessario il supporto e il coordinamento dei laboratori di microbiologia, cui, nell'ottobre 2005, sono stati richiesti specifici dati circa il livello di conduzione degli esami coproculturali – agenti ricercati, tipizzazione o meno - onde verificare le capacità di sorveglianza epidemiologica su scala regionale, come pure a conoscere l'adesione o meno alla rete Enter-net. Un modello organizzativo di coordinamento e razionalizzazione, già applicato, è costituito dai Laboratori di Sanità Pubblica delle ASL di Varese e della Provincia di Milano 1, che, essendo in grado di effettuare la sierotipizzazione completa degli stipiti di *Salmonella*, si sono attivati per fungere da centri di riferimento per i laboratori ospedalieri presenti nel proprio bacino d'utenza; in tal modo è stato possibile raccogliere dati omogenei e inviare alla rete Enter-net, cui entrambi i laboratori aderiscono, i dati mediante la nuova scheda epidemiologica, come suggerito alla riunione annuale del progetto europeo Enter-net, tenutasi nel 1999 a Roma, che prevedeva un ampliamento del sistema di sorveglianza (monitoraggio delle caratteristiche microbiologiche con identificazione del siero-liso-tipo, antibioticoresistenza e produzione di tossine degli stipiti di *Salmonella*, *E. coli* O157 e altri enterobatteri isolati sia da casi di infezione nell'uomo che da matrici "non umane") e utilizzando un protocollo per il flusso dei dati, articolato in diversi livelli, proposto dal Centro Enterobatteri per l'Italia settentrionale (CEPIS). L'estensione del sistema utilizzato nelle due ASL di cui si riporta l'esperienza e l'implementazione delle nuove modalità per la conduzione delle indagini epidemiologiche, potrà dunque consentire un livello di sorveglianza avanzato, con dati completi e, quindi, confrontabili nel tempo e nello spazio.

## **P32** SHIFTING DEI SIEROGRUPPI DI SHIGELLA IN TEHRAN, IRAN

Reza Ranjbar (a,b), Mohammad Mahdi Soltan-Dallal (a), Mohammad Reza Pourshafie (c)

(a) School of Public Health & Health Researches, University of Medical Sciences, Tehran

(b) Center of Molecular Biology Baqiyatallah, University of Medical Sciences, Tehran

(c) Department of Microbiology, Institute Pasteur of Iran, Tehran

Prima di questo studio, i sierogruppi di *Shigella* diversi da *S. sonnei* erano stati riportati come la causa prevalente di shigellosi in ambito pediatrico in Iran. Tuttavia, all'inizio del 2003, la frequenza di isolamento di *S. sonnei* è aumentata bruscamente. Sono qui riportati i risultati di un'indagine sulla distribuzione di *Shigella spp.* isolate da casi di gastroenterite e diarrea acuta diagnosticati clinicamente a Tehran in pazienti di età inferiore a 12 anni nel periodo Dicembre 2002 - Novembre 2003. Dei 302 pazienti, 167 (55,3%) erano maschi e 135 (44,7%) erano femmine. Sono stati isolati un totale di 302 ceppi confermati di *Shigella*. Di questi, 178 sono stati identificati come *S. sonnei* (58,9%), 110 *S. flexneri* (36,4%), 10 *S. boydii* (3,3%), e 4 *S. dysenteriae* (1,3%). La frequenza di isolamento è risultata più bassa durante i mesi invernali rispetto ai mesi estivi. In questo studio il tasso di mortalità di shigellosi è stato pari al 2,1%. Nello studio attuale, per la prima volta, *S. sonnei* appare come il sierogruppo prevalente in Iran.

## **P33** USO DI METODICHE TRADIZIONALI E MOLECOLARI PER LA CARATTERIZZAZIONE DI ISOLATI DI *SALMONELLA HADAR* A FINI EPIDEMIOLOGICI

Antonia Ricci, Eleonora Berto, Giuseppina Chiaretto, Maria Cristina Dalla Pozza, Claudio Minorello, Paola Zavagnin, Veronica Cibirin

*Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

*S. hadar* è uno dei cinque sierotipi di *Salmonella* più frequentemente isolati in Europa da casi clinici umani ed è stato recentemente identificato dalla Commissione Europea come sierotipo rilevante per la sanità pubblica (Regolamento 1003/2005). Dai rapporti annuali del sistema di sorveglianza Enter-vet risulta che *S. hadar* è uno dei sierotipi maggiormente isolati da campioni di origine animale (da campioni di pollo in particolare) in Italia. Le carni di pollo e tacchino sono state inoltre identificate come le maggiori responsabili di tossinfezioni alimentari umane sostenute da *S. hadar* in Europa. Il ruolo significativo svolto da *S. hadar* quale agente di zoonosi, associato alla elevata prevalenza di ceppi multiresistenti, sottolinea l'importanza di disporre di metodiche che consentano di caratterizzare e discriminare i ceppi isolati, al fine di evidenziare eventuali correlazioni epidemiologiche. Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare l'applicabilità e il potere discriminante di diversi metodi analitici utilizzati per tipizzare gli isolati di *S. hadar*. Sono stati oggetto di studio 31 ceppi di *Salmonella hadar* epidemiologicamente non correlati, di cui 20 isolati da campioni di origine animale e 11 da campioni di origine umana, selezionati dalla collezione del Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi. Ciascun isolato è stato saggiato per la sensibilità agli antibiotici mediante il test di agar diffusione (Kirby-Bauer) ed è stata valutata la Minima Concentrazione Inibente (MIC) per gli antibiotici chinolonici. Si è proceduto inoltre all'analisi del profilo plasmidico e all'analisi del DNA cromosomiale batterico mediante PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*) utilizzando gli enzimi di restrizione XbaI, SpeI e BlnI. Dall'analisi dei profili di antibioticoresistenza è stato possibile identificare due principali profili di resistenza; inoltre tutti i campioni in esame, tranne uno, sono risultati resistenti all'Acido Nalidixico, con valori di MIC superiori a 256 µg/ml. L'analisi del profilo plasmidico ha permesso di identificare nove diversi gruppi, con prevalenza del gruppo A a cui fanno capo il 71% degli isolati. L'interpretazione dei risultati della PFGE consente di affermare che l'uso dell'enzima di restrizione BlnI fornisce il maggiore indice di discriminazione. Infine, la combinazione del profilo plasmidico, del profilo di resistenza e dell'analisi con le tre endonucleasi, ha consentito di suddividere i 31 ceppi di *S. hadar* in 21 diversi gruppi. In conclusione le metodiche sopra descritte possono considerarsi un utile strumento di indagine per meglio comprendere le correlazioni epidemiologiche tra ceppi di *S. hadar* isolati da animali e da uomo e per permettere quindi di individuare più facilmente le fonti di infezione per l'uomo.

### **P34 PREVALENZA DEI GENI FLAA, CADF, CDTA, CDTB, CDTC E CDT CLUSTER IN CAMPYLOBACTER SPP. ISOLATI DA CASI UMANI, ALIMENTI E ANIMALI**

Giancarlo Ripabelli (a), Michela Lucia Sammarco (a), Incoronata Fanelli (a), Annalisa Leone (a), Ida Luzzi (b)

(a) *Cattedra di Igiene, Dipartimento di Scienze per la Salute, Università degli Studi del Molise, Campobasso*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La campylobacteriosi è l'infezione umana a trasmissione alimentare più comunemente diffusa a livello mondiale. I fattori determinanti la virulenza del *Campylobacter spp.* sono ancora da chiarire, ma la motilità mediata da flagelli, l'aderenza batterica alla mucosa intestinale, la capacità invasiva e la produzione di tossine sono tra i determinanti di patogenicità. La patogenesi delle campylobacteriosi umane è poco conosciuta, sebbene siano stati individuati diversi geni codificanti per fattori di virulenza. Tra questi abbiamo il gene della flagellina (*flaA*) che è il principale fattore per l'infettività del *Campylobacter spp.*; il gene *cadF* che codifica per l'adesina, proteina di membrana coinvolta nella colonizzazione della mucosa intestinale; i geni *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* codificanti per la CDT (*Cytolethal Distending Toxin*), composta da tre subunità proteiche, in grado di indurre arresto del ciclo cellulare, distensione del citoplasma e frammentazione della cromatina, con successiva morte cellulare. In questo studio, sono stati amplificati alcuni geni di virulenza in 29 ceppi di *Campylobacter jejuni* (11 umani, 13 alimenti, 5 animali) e in 36 ceppi di *Campylobacter coli* (20 umani, 8 alimenti, 8 animali) isolati nel nord Italia. I 65 campioni analizzati hanno mostrato diverse prevalenze per i seguenti geni: *flaA* 100% in *C. jejuni* e in *C. coli*; *cadF* 100% in *C. jejuni* e in *C. coli*; *cdtA* 100% in *C. jejuni* e 97,2% in *C. coli* (100% in umani e alimenti, 87,5% in animali); *cdtB* 100% in *C. jejuni* e 97,2% in *C. coli* (100% in umani e animali e 87,5% in alimenti); *cdtC* 100% in *C. jejuni* e 97,2% in *C. coli* (100% in umani e alimenti e 87,5% in animali); *cdt* cluster, che raggruppa *cdt A*, *B* e *C*, 100% in *C. jejuni* e 94,4% in *C. coli* (90% in umani e 100% in animali e alimenti). La prevalenza di ciascun gene amplificato è risultata sempre del 100% in tutti i *C. jejuni*, mentre in *C. coli* la prevalenza si differenzia in base agli isolati, sebbene sia stata del 100% negli isolati di origine umana. Il gene *cdt* cluster, invece, ha mostrato prevalenza maggiore nei ceppi animali e alimentari. In generale, la prevalenza del 100% di geni codificanti per fattori di virulenza nei ceppi umani conferma la capacità patogenetica degli isolati; mentre, per quanto riguarda il gene *cdt* cluster, in letteratura è riportata una minore prevalenza rispetto agli altri geni. Questa situazione sembra essere determinata dai primer utilizzati e, pertanto, può essere meglio valutata utilizzando primer alternativi, disegnati per amplificare il medesimo target in maniera più specifica.

## **P35** APPLICAZIONE E CONFRONTO DELLE TECNICHE PFGE E SAFLP PER LO STUDIO DELL'EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DI *CAMPYLOBACTER SPP*

Mariana Rotili (a), Annalisa Leone (a), Giancarlo Ripabelli (a), Michela Lucia Sammarco (a),  
Ida Luzzi (b), Guido Maria Grasso (a)

(a) *Cattedra di Igiene, Dipartimento di Scienze per la Salute, Università degli Studi del  
Molise, Campobasso*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di  
Sanità, Roma*

Il consumo di alimenti contaminati da *Campylobacter spp.* causa malattie gastrointestinali nell'uomo. *C. coli* e *C. jejuni* colonizzano l'intestino di diverse specie animali e questo rende difficile comprendere l'origine dell'infezione. In questo studio sono stati messi a confronto due metodi di tipizzazione molecolare quali la *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE) e la *Single Enzyme Amplified Fragment Length Polymorphism* (sAFLP). I ceppi di *C. jejuni* (n=47) e *C. coli* (n=37) esaminati sono stati isolati da casi umani, alimenti e animali, provenienti dal nord Italia. I profili ottenuti con entrambe le tecniche sono stati analizzati sia per le singole specie che per le due specie combinate, usando il programma Bionumerics e considerando l'ottimizzazione e la tolleranza all'1%. I dendrogrammi ottenuti hanno mostrato che entrambe le tecniche sono in grado di identificare grossi cluster anche se l'analisi della PFGE ha richiesto l'uso di livelli di similarità più bassi. È stato, inoltre, calcolato l'indice di diversità di Simpson il cui elevato valore, compreso tra 0,97-0,99, mostra un'alta capacità discriminante per entrambe le metodiche. I criteri di Tenover sono stati utilizzati per valutare epidemiologicamente i profili di PFGE, sebbene i ceppi non fossero epidemici: per *Campylobacter coli*, ad una similarità del 70%, gli isolati risultano "possibilmente correlati", invece al 90% di similarità i ceppi sono "strettamente correlati"; nel caso di *Campylobacter jejuni*, al 70% di similarità i ceppi risultano "strettamente correlati", mentre al 90% sono "indistinguibili" o "strettamente correlati" differendo al massimo per 1 banda. La PFGE ha formato gruppi più omogenei rispetto alla sAFLP, costituiti cioè da ceppi aventi origine comune; invece la sAFLP ha clusterizzato gli isolati in gruppi più eterogenei, includendo isolati di origine umana insieme a quelli di provenienza animale e alimentare. Entrambe le tecniche sono state in grado di riconoscere le due specie, raggruppandole in due grossi cluster, con l'eccezione di pochi ceppi. Le due metodiche mostrano approssimativamente pari utilità, anche se la sAFLP è sicuramente meno laboriosa e meno costosa rispetto alla PFGE, considerata comunque il "gold standard" nell'ambito dei metodi di genotipizzazione. I nostri risultati confermano l'estrema eterogeneità genetica di *Campylobacter* che rende complessa la comprensione dell'epidemiologia di queste infezioni.

## **EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DELLE INFEZIONI DA NOROVIRUS IN BAMBINI AFFETTI DA GASTROENTERITE ACUTA**

Anna Sallustio (a), Maria Chironna (a), Anna Neve (a), Cesare Di Bari (b), Michele Quarto (a)  
(a) *Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica, Sezione di Igiene, Università degli Studi di Bari*  
(b) *Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Bari*

I Norovirus (NV), appartenenti alla famiglia dei Caliciviridae, rappresentano i principali agenti di gastroenterite acuta di origine non batterica. La loro trasmissione avviene tramite ingestione di alimenti (in particolare mitili consumati crudi) e acqua contaminati. Importante è anche il contagio interumano attraverso la via feco-orale. L'introduzione delle tecniche molecolari ha consentito la determinazione di questi agenti nei campioni clinici e nelle matrici alimentari e ha dato un notevole contributo allo studio delle caratteristiche epidemiologiche delle infezioni da NV. Sulla base dell'analisi delle sequenze nucleotidiche i NV vengono distinti in due genogruppi principali (GGI e GGII) comprendenti rispettivamente 9 (GGI) e 10 (GGII) genotipi. Obiettivo dello studio è stato quello di valutare la prevalenza delle infezioni da Norovirus in bambini ospedalizzati affetti da gastroenterite acuta e caratterizzare, mediante sequenziamento, i ceppi isolati. Tra maggio 2002 e giugno 2003 sono stati raccolti 362 campioni di feci provenienti da bambini ricoverati presso l'Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII di Bari. Ciascun campione è stato convertito in estratto fecale al 10% in PBS e congelato a -20 °C fino all'esecuzione dei test molecolari. Su ogni campione, dopo estrazione dell'RNA, è stata effettuata la ricerca di NV mediante nested RT-PCR usando primer nella regione codificante per la RNA polimerasi (JV12 e SM31 per la RT-PCR, SR48 e SR46 per la nested PCR). Gli ampliconi dei campioni positivi sono stati purificati e sottoposti a sequenziamento automatico (ABI PRISM 377). Nell'analisi filogenetica sono stati inclusi ceppi caratterizzati nel corso di altri studi. Di 172 campioni finora analizzati, il 47% (81) è risultato positivo per la presenza di NV. Sono stati sottoposti a sequenziamento 33 campioni. L'analisi delle sequenze nucleotidiche ha mostrato che tutti i campioni, tranne uno, appartenevano al GGII. Nell'ambito del genogruppo GGII la maggior parte dei ceppi (91%) correlava strettamente con la variante GGII/4 Lordsale (98% di similarità con il ceppo Hu/NoV/Farmington Hills/2002/USA). Tale variante, caratterizzata dal motivo AATCTG nel gene della polimerasi (posizione 4820, riferita al ceppo Norwalk, M87671), è risultata emergere a partire dal 2002 ed è stata riscontrata nella maggior parte dei focolai epidemici di gastroenterite acuta in Europa. Altri due ceppi formavano due ulteriori cluster distinti nell'ambito del genogruppo GII. In conclusione, i dati mostrano l'importanza dei NV quali agenti di gastroenterite acuta anche nei bambini. L'analisi molecolare ha evidenziato un'elevata circolazione della variante GGII/4 Lordsale e la presenza solo sporadica di ceppi GGI.

## **EPISODIO EPIDEMICO DI SINDROME EMOLITICO UREMICA (SEU) ASSOCIATA A INFEZIONE DA *E. COLI* O26, IN PROVINCIA DI SALERNO**

Gaia Scavia (a), Anna Botta (b), Marta Luisa Ciofi degli Atti (a), Giuseppe Di Fluri (c), Alfonso Ferretti (d), Giorgio Galiero (e), Maria Luisa Marziano (a), Rosanna Merola (c), Fabio Minelli (a), Giovanni Montini (f), Carmine Pecoraro (d), Renato Pizzuti (g), Alberto Eugenio Tozzi (h), Anna Maria Trani (c), Alfredo Caprioli (a)

*(a) Dipartimento Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*(b) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Campania, Salerno*

*(c) ASL Salerno 3, Vallo di Lucania, Salerno*

*(d) Azienda Ospedaliera Santobono-Pausilipon, Napoli*

*(e) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Salerno*

*(f) Azienda Ospedaliera di Padova*

*(g) Osservatorio Epidemiologico Regionale della Campania, Napoli*

*(h) Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma*

La sindrome emolitico uremica (SEU) è la più comune causa di insufficienza renale acuta in età pediatrica. generalmente fa seguito all'infezione intestinale da *E. coli* produttore di verocitotossina (VTEC). I ruminanti, in particolare bovini, costituiscono il serbatoio naturale dei VTEC che si trasmettono all'uomo per via alimentare, da persona a persona o per contatto diretto con gli animali. *E. coli* O157 è il sierogruppo più frequentemente associato alla SEU. Da qualche anno in Italia, si registra un aumento dei casi di SEU associati ad altri sierogruppi. In particolare, VTEC O26 rappresenta attualmente il sierogruppo più frequentemente diagnosticato. A partire dal 1988, il 48% del totale nazionale dei casi di SEU associati a questo sierogruppo, si sono verificati in Campania. Nel corso del 2005 in provincia di Salerno, sono stati osservati due cluster di casi di SEU che avevano come elemento comune il soggiorno nella zona del Cilento. Il primo cluster comprendeva tre casi, di cui uno fatale, avvenuti nel mese di giugno. Tutti i casi sono stati attribuiti ad infezione da VTEC O26 e avevano come comune fattore di rischio il consumo di latticini freschi, prodotti dallo stesso caseificio locale. Anche i tre bambini coinvolti nel secondo cluster, verificatosi in settembre, avevano consumato latticini di produzione locale e uno dei due casi esaminati è stato attribuito allo stesso sierogruppo. Le potenziali fonti di infezione (alimentari e ambientali) sono state sottoposte ad indagini microbiologiche per la ricerca dei VTEC. In occasione del primo cluster l'intera filiera produttiva dei latticini è stata saggiata attraverso un numero elevato di campioni (157 ceppi di *E. coli* isolati e saggiati per produzione di VT) prelevati in allevamento (feci, latte crudo), lungo il processo di trasformazione presso il caseificio, compresi gli addetti alla lavorazione, e sul prodotto finito. Non è stato possibile individuare la fonte di infezione, poiché il lungo intervallo di tempo tra l'insorgenza dei casi e la loro segnalazione nonché l'esigua numerosità dei pazienti, hanno impedito di avviare tempestivamente i campionamenti e di svolgere uno studio caso-controllo per l'identificazione delle esposizioni a rischio.

In conclusione, questo episodio conferma:

- l'importanza delle infezioni sostenute da VTEC O26 in Italia;
- nell'ambito del sistema di sorveglianza della SEU la tempestività di notifica rappresenta un requisito essenziale per identificare le epidemie e intervenire con probabilità di successo nell'individuazione e rimozione delle fonti di infezione.

## **P36 SINDROME EMOLITICO UREMICA (SEU): STUDIO DI FATTORI DI RISCHIO ATTRAVERSO DATI DI SORVEGLIANZA CLINICA**

Gaia Scavia (a), Alberto Eugenio Tozzi (b), Luca Busani (a), Fabio Minelli (a), Maria Antonietta Procaccino (b), Alfredo Caprioli (a)

a) *Dipartimento Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

b) *Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma*

L'infezione da ceppi di *E. coli* verocitotossina produttori (VTEC) è responsabile nell'uomo di tossinfezione alimentare con quadri clinici di varia gravità, tra i quali la sindrome emolitico-uremica pediatrica (SEU) rappresenta la più seria complicanza. La specie bovina viene considerata il principale reservoir animale di questi patogeni, che si trasmettono all'uomo attraverso l'ingestione di alimenti contaminati da feci bovine infette, acque contaminate e prodotti coltivati su terreni fertirrigati con deiezioni bovine infette. La SEU riconosce nelle infezioni da VTEC il principale agente eziologico e viene considerata un robusto indicatore epidemiologico di tali infezioni nella popolazione. Tra il 1988 e il 2004 il sistema nazionale di sorveglianza volontario della SEU pediatrica ha registrato 441 casi, con un tasso d'incidenza medio annuale di 0,27 casi /100.000 abitanti (età compresa tra 0 e 15 anni). Questo risulta più elevato al nord Italia (0,37) rispetto al centro (0,20) e al mezzogiorno (0,29). Le zone ad elevata incidenza includono aree territoriali fortemente popolate, con grandi centri urbani, e aree ad elevata vocazione agro-zootecnica. Nel presente studio alcuni indicatori demografici (*dimensioni del comune, densità di popolazione*) e territoriali (*Area geografica, Superficie Agricola Utile (SAU), SAU/abitante; n. capi bovini/SAU; n. capi bovini/abitante*) sono stati valutati come potenziali fattori di rischio per SEU. I dati, sono stati ricavati dalle banche dati ISTAT sulla popolazione (2002) e dal 5° Censimento Generale dell'Agricoltura (2.000). L'esame dei tassi d'incidenza specifici ha permesso di evidenziare trend per alcuni indicatori sia a livello nazionale che di macroarea. Per la *densità abitativa* e la *dimensione del comune*, un trend crescente a livello nazionale era particolarmente marcato nell'area meridionale ma non si osservava nel nord Italia. Situazione opposta per gli indicatori di ruralità, con trend crescenti al nord e completamente assenti nel mezzogiorno, fino a mostrare tendenza opposta per il rapporto *SAU/abitante*. Tutti i comuni con casi di SEU sono stati classificati in base all'incidenza della SEU e il ruolo degli indicatori, come potenziali fattori di rischio, è stato saggiato attraverso modelli di regressione logistica multivariata. I risultati hanno mostrato un incidenza significativamente più elevata per i comuni situati nel nord Italia (OR=6,8 95%C.I. 3,4-13,7) e per quelli con maggiori valori del rapporto, *SAU/abitante* (OR=7,3 95%C.I. 2,5-21,0). Nell'epidemiologia della SEU i fattori connessi all'ambiente e all'attività agricola sembrano, dunque, giocare un ruolo importante; l'utilizzo di strumenti specifici di analisi spaziale e temporale (GIS) potrebbe consentirne una migliore definizione.

## **P37** EPISODIO EPIDEMICO DA *SALMONELLA* *ENTERICA* SIEROTIPO 4,[5],12; I; -, ASSOCIATO AL CONSUMO DI PORCHETTA

Stefania Scuota, Alessia Zicavo, Michele Amurri, Silvia Cibotti, Monica Staffolani,  
Telemaco Cenci

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia e Macerata*

Durante l'ultimo decennio, la diffusione di ceppi di *Salmonella enterica* serovar 1,4,[5],12:i:-, ha subito un costante incremento, soprattutto negli isolati di origine umana. In Italia, nonostante il basso numero di isolamenti, questo sierotipo risulta essere il terzo più frequentemente isolato da campioni umani. Anche in ambito veterinario, tale sierotipo, che risulta per lo più correlato al suino e ai prodotti derivati, risulta in costante crescita. Nel maggio scorso, in provincia di Perugia, si è verificato un episodio tossinfettivo causato da *Salmonella enterica* sierotipo 4,[5],12; i; -, legato al consumo di una porchetta contaminata, che è stata servita in occasione di un rinfresco aziendale. L'episodio ha coinvolto un numero piuttosto alto di persone. Il ceppo è stato isolato da un residuo del pasto conferito al Laboratorio di Microbiologia degli Alimenti dell'IZS. Nei giorni successivi, dai laboratori ospedalieri afferenti al Centro di Riferimento Regionale Enteropatogeni dell'IZS di Perugia sono stati inviati numerosi ceppi isolati da casi clinici, che sono risultati appartenere allo stesso sierotipo. Nelle schede di notifica, solo in due casi era citata l'associazione tra l'infezione e il consumo di porchetta. La maggior parte dei ceppi umani pervenuti nello stesso periodo mostrava lo stesso profilo di resistenza agli antibiotici del ceppo isolato dall'alimento (Am.S.Su), mentre altri se ne differenziavano per la reazione alla cefalotina, verso la quale si evidenziava resistenza o reazione intermedia. I risultati della PFGE, applicata a tutti i ceppi dello stesso sierotipo pervenuti al Centro di Riferimento, mostrano una stretta correlazione tra i ceppi esaminati, a prescindere dal diverso comportamento verso gli antibiotici saggiati. L'applicazione della PFGE ha permesso pertanto di ricondurre al suddetto episodio tossinfettivo un numero di ceppi ben più alto di quello che si poteva evincere dalle schede di notifica. Si conferma l'efficacia di questa tecnica di tipizzazione quale strumento di riconoscimento e di sorveglianza di episodi epidemici.

## **P38 LA CAMPYLOBATTERIOSI NELLA SELVAGGINA DA PIUMA ALLEVATA**

Gabriella Soncini (a), Luciana Valnegri (a), Lorenzo Vercellotti (b), Domenica Valle (b), Fabio Colombo (a), Mery Franzoni (a)

(a) *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano*

(b) *ASL11, Vercelli*

La Campylobatteriosi continua ad essere una zoonosi molto diffusa, in special modo nel nord Europa, tant'è che in U.K. risulta avere un'incidenza superiore a quella di *Salmonella spp.* Altrettanto dicasi in USA dove si hanno 15 casi denunciati ogni 100.000 abitanti, mentre i casi stimati sono circa un milione, pari allo 0,5% della popolazione. Nonostante la sua diffusione sono ancora poco conosciute le modalità di trasmissione e di contaminazione. L'UE ha preso atto della gravità della situazione e, con la Raccomandazione del 19 dicembre 2003, ha inteso acquisire, tramite un programma coordinato di controlli ufficiali, i dati per delineare la situazione epidemiologica della campylobatteriosi nel pollame e negli altri prodotti di O.A., per giungere ad una parametrizzazione legislativa. In questo contesto il MIUR ha proposto e finanziato una ricerca su tutta la filiera avicola, nella quale rientra anche la selvaggina da piuma allevata, e con la presente nota si dà conto dei primi risultati ottenuti. Gli animali sottoposti ad indagine sono stati piccioni e fagiani provenienti da un macello per la selvaggina, annesso ad allevamento, presente nell'ASL11. Nel periodo gennaio-marzo 2005 sono stati conferiti, in regime di refrigerazione, ben 515 campioni. Essi sono stati raggruppati in pool, ognuno di 5 soggetti, per un totale di 103 campioni da sottoporre ad analisi. Le analisi sono state sia di tipo qualitativo che quantitativo. Complessivamente si sono analizzati 67 pool per la ricerca qualitativa e 36 pool per la ricerca quantitativa. In entrambe le ricerche le colonie cresciute sul terreno selettivo CCDA supplementato con CCDA Selective Supplement sono state ulteriormente sottoposte al test della catalasi, dell'ossidasi e alla colorazione di Gram. Sono state considerate positive solo le colonie che superavano tutti e tre i test. In questo caso, dopo opportuno trattamento, venivano sottoposte alla PCR per la conferma di appartenenza al genere *Campylobacter*. In base alla nostra esperienza, a fronte di 67 analisi qualitative si sono avute 11 positività (pari al 16,4 %), mentre su 36 analisi quantitative si sono avute 2 positività (pari al 5,5%). A ricerca ancora in corso per quanto riguarda le analisi con metodica PCR, queste, per ora, non hanno confermato tutte le precedenti positività.

*Ricerca finanziata da MIUR-Progetto di ricerca interuniversitario "Rischio sanitario delle carni avicole fresche e trasformate e tutela del consumatore" - PRIN 2004 n.2004077590 - Unità Operativa di Milano (Prof. Soncini) "Valutazione del rischio microbiologico, tramite la ricerca di Salmonella e Campylobacter, in selvaggina da piuma allevata"*

## **P39** FREQUENZA DI ISOLAMENTO DI SIEROTIPI DI *SALMONELLA ENTERICA* DI ORIGINE AMBIENTALE NELLA REGIONE MARCHE NEL TRIENNIO 2003-2005

Monica Staffolani (a), Cristina Reggiani (b), Stefano Fisichella (a)  
(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Macerata  
(b) Agenzia Regionale Protezione e Ambiente Marche, Pesaro

*Salmonella enterica* è un microrganismo ubiquitario con un ciclo biologico che contempla oltre a serbatoi umani e animali anche un serbatoio ambientale. Le Salmonelle si ritrovano frequentemente nei liquami, nei fiumi, in altre acque superficiali e nel suolo. La loro presenza nell'ambiente indica l'esistenza di una contaminazione fecale primaria (immissione diretta di acqua di scarico) o secondaria (dilavamento dei suoli di un bacino idrografico). Nell'ambito della rete di sorveglianza Enter-net, il nostro centro di riferimento regionale ha sviluppato dal 2003 una proficua collaborazione con i Dipartimenti Provinciali della ARPA della Regione Marche, al fine di controllare la diffusione dei sierotipi di *Salmonella* nel serbatoio ambientale e di studiare i relativi profili di resistenza agli antibiotici. Nel triennio 2003-2005 sono stati inviati presso il nostro Centro 138 ceppi di *Salmonella enterica* isolati da fonti ambientali della regione Marche. I ceppi sono stati sierotipizzati tramite agglutinazione su vetrino utilizzando sieri del commercio. La sierotipizzazione ha evidenziato come i ceppi esaminati si distribuiscono in ben 39 sierotipi differenti, a conferma di come la dispersione di sierotipi sia di gran lunga maggiore tra gli isolati ambientali rispetto agli isolati umani, alimentari o animali. *Salmonella* Veneziana con 28 isolamenti rappresenta il primo sierotipo per frequenza (20% degli isolati), seguita da *Salmonella* Napoli con 19 isolati (13%) e *Salmonella Livingstone* con 13 isolati (9%). Solo al quarto posto con 10 isolamenti (7%) si colloca *Salmonella typhimurium*, che invece rappresenta il sierotipo predominante in ambito umano. Da segnalare anche i tre isolamenti, dallo stesso fiume, di *Salmonella* (4,5,12:i:-), il c.d. nuovo sierotipo, che ha subito un costante incremento, soprattutto negli isolati di origine umana, risultando ormai in Italia il terzo sierotipo più frequentemente isolato da campioni clinici. La sensibilità agli antibiotici è stata saggiata nei confronti delle seguenti molecole: Acido nalidixico, Amoxicillina/acido-clavulanico, Ampicillina, Cefalotina, Cefotaxime, Ciprofloxacina, Cloramfenicolo, Colistina, Enrofloxacin, Gentamicina, Kanamicina, Neomicina, Streptomycin, Sulfonamidi, Tetraciclina e Trimethoprim-sulfametossazolo. L'antibiogramma è stato eseguito secondo la tecnica della diffusione su dischetto seguendo le linee guida dell'NCCLS. Gli isolati sono stati piastrati su Muller-Hinton agar e per il test sono stati impiegati dischetti antibiotici del commercio. I ceppi cosiddetti multiresistenti, ovvero con 4 o più antibiotico-resistenze, sono stati 16, ovvero il 11% del totale dei ceppi esaminati.

## **P40** FREQUENZE DEGLI ISOLAMENTI DI *SALMONELLA* NEL 2004 DA UOMO, ALIMENTI E ANIMALI NELL'AMBITO DELLA ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA DEL CENTRO DI RIFERIMENTO REGIONALE PER GLI ENTEROBATTERI PATOGENI DELLA REGIONE LAZIO

Rita Tolli, Anna Paola Salinetti, Gina Di Giampietro, Maria Grazia Marrocco, Paola De Santis, Lucia Scaramella, Stefano Bilei

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma*

Nel corso dell'anno 2004 presso il Centro di Riferimento Regionale per gli enterobatteri patogeni sono stati sierotipizzati complessivamente 965 ceppi di *Salmonella* di cui 360 (37,3%) da campioni di origine veterinaria e 605 (62,7%) da campioni di origine umana. Nell'uomo, *S. typhimurium* risulta il sierotipo prevalente (45,8%) seguito da *S. enteritidis* (28,6%). Quest'ultimo, dopo essere stato nel corso degli anni '90 il sierotipo prevalente, nel biennio 2001-2002 diventa il secondo per frequenza di isolamento (27,4% e 21,3%) dopo *S. typhimurium* (42,7% e 45,9%). Nel 2003 nella regione Lazio, diversamente da quanto osservato a livello nazionale, si registra un'ulteriore inversione nella prevalenza con *S. enteritidis* che torna ad essere il primo sierotipo isolato (41,5%). La distribuzione di *Salmonella* presenta il tipico andamento stagionale con valori massimi concentrati nel periodo estivo-inizio autunno ma con un picco nel mese di aprile dovuto ad un episodio tossinfettivo da *S. typhimurium* DT 104A nella città di Roma e provincia. Il maggior numero degli isolamenti complessivi, si riferisce alla classe di età 1-5 anni (43%) e 16-64 anni (23,5%). *S. enteritidis* e *S. typhimurium* rappresentano da soli il 74,4% degli isolati nell'uomo seguiti a distanza da *S. infantis* (3,3%) e da *Salmonella* 4,5,12:i:- (2,5%). *Salmonella* 4,5,12:i:-, nel corso degli ultimi tre anni ha fatto registrare un sensibile aumento sia in valore assoluto che in percentuale passando dai 4 isolamenti (1%) del 2002 ai 6 (1,3%) del 2003, ai 15 (2,5%) del 2004. Negli animali *Salmonella* 4,5,12:i:-, rappresenta il 5° sierotipo (4,9%) con la totalità degli isolamenti provenienti dal suino nel quale peraltro risulta essere il primo sierotipo più frequente (23,4%); negli alimenti la percentuale di isolamento è del 2,2%. Nei campioni di origine veterinaria (alimenti e animali), il sierotipo più frequentemente isolato è *S. typhimurium* (20,5%) seguito da *S. derby* (7,5%) e da *S. enteritidis* (5,5%). *S. typhimurium* si conferma il sierotipo prevalente negli alimenti di origine animale (31,8%) con la quasi totalità dei ceppi (39 su 43) isolati da prodotti di origine suina; seguono *S. derby* (14,8%) e *S. London* (6,6%). Anche negli animali *S. typhimurium* risulta il sierotipo prevalente (13,5%) seguita da *S. enterica* subsp *diarizonae* serovar 61:k:1,5,7 (8%) e da *S. abortusovis* (7,7%) entrambe isolate esclusivamente dall'ovino.

## **P41 VALUTAZIONE IGIENICO-SANITARIA DELLA FILIERA DI ALLEVAMENTO DI GALLINE OVAIOLE E DI PRODUZIONE DI UOVA PER IL CONSUMO UMANO: RISULTATI PRELIMINARI**

Lorenzo Torosantucci, Incoronata Fanelli, Michela Lucia Sammarco, Giancarlo Ripabelli, Guido Maria Grasso

*Dipartimento di Scienze per la Salute, Cattedra di Igiene, Università degli Studi del Molise, Campobasso*

Nell'allevamento intensivo numerosi sono i fattori che condizionano direttamente la salute degli animali e la salubrità del prodotto. Tra questi si possono ricordare le condizioni igienico-sanitarie, la conduzione e l'ambiente. Il nostro studio si propone di valutare le condizioni igienico-sanitarie nelle fasi di allevamento e produzione di uova, mediante la ricerca dei principali agenti patogeni (*Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter spp.*) e dei coliformi fecali. Il campionamento è stato effettuato mediante prelievo di tamponi cloacali, tamponi ambientali (gabbia, mangiatoia, nastro trasporto uova, selezionatrice uova, nastri di trasporto, confezionatrice e carrelli di trasporto uova), acqua, mangime e uova. Inoltre sono state studiate come vettori di patogeni le mosche catturate sia all'interno sia all'esterno dell'allevamento. Durante il periodo aprile-settembre 2005 sono stati effettuati 6 campionamenti con prelievo di 30 tamponi ambientali nel capannone, 30 nel locale di confezionamento, 30 tamponi cloacali, 30 campioni uova, 6 campioni di acqua, 12 campioni di mangime dal silos, 18 dalle mangiatoie, 2 campioni di mosche catturate all'interno dell'allevamento e 3 all'esterno. Dai risultati finora ottenuti abbiamo identificato: *Salmonella Liverpool* e *Listeria innocua* in 3 (25%) e in 2 (16,6%) campioni di mangime dal silos rispettivamente; *Listeria innocua* in 1 (5,5%) campione di mangime delle mangiatoie e in 1 (25%) campione di mosche catturate all'esterno; *Campylobacter spp.* in 29 (96,6%) tamponi cloacali, di cui 27 (93,1%) *C. jejuni* e 2 (6,9%) *C. coli*; *Campylobacter spp.* in 3 (10%) campioni di guscio uova, di cui 2 (66,7%) *C. coli* e 1 (33,3%) *C. jejuni*. I coliformi fecali risultano essere presenti in 24 (80%) campioni di mangime, di cui 15 (62,5%) prelevati in mangiatoia e 9 (37%) da silos, in tutti i tamponi cloacali (100%), in 5 (8,3%) tamponi ambientali prelevati all'interno dell'allevamento, in 5 (16,7%) campioni di gusci di uova, e in tutti i campioni di mosche (100%). I risultati provvisori indicano che nel 25% dei campioni di mangimi silos è stata identificata la *Salmonella Liverpool*, i mangimi sono altamente contaminati da coliformi fecali (80%), mentre nei locali di confezionamento non è stata rilevata la loro presenza; nelle mosche non sono stati identificati patogeni anche se la prevalenza dei coliformi fecali è risultata elevata. Secondo alcuni autori la presenza di *Listeria innocua* in campioni rappresenta un indicatore di potenziale presenza di *Listeria monocytogenes*. Inoltre lo studio ha confermato la notevole diffusione di *Campylobacter spp.* nei serbatoi animali, soprattutto negli avicoli.

## **P42** DISTRIBUZIONE DELLA GI O#57, UNA PUTATIVA ISOLA DI PATOGENICITÀ DELL'ESCHERICHIA COLI O157, IN CEPPI DI *E. COLI* ATTACHING AND EFFACING

Rosangela Tozzoli, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito  
*Dipartimento di Sanità Alimentare e Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Gli stipiti di *Escherichia coli* *Attaching and Effacing* (AEEC) sono causa di infezione nell'uomo e negli animali e comprendono i ceppi di *E. coli* enteropatogeni (EPEC) ed enteroemorragici (EHEC). Gli AEEC sono caratterizzati dalla capacità di colonizzare gli enterociti dell'ospite con un meccanismo denominato *Attaching and Effacing*. La capacità di indurre questo tipo di lesione è dovuta alla presenza di un'isola di patogenicità definita *Locus of Enterocyte Effacement* (LEE). Gli EHEC inoltre producono Verocitotossine (VT) codificate da geni portati da batteriofagi lisogeni. Il completamento della sequenza del genoma del ceppo EHEC O157 EDL933 ha messo in evidenza la presenza nel DNA in questo microrganismo di una notevole quantità di materiale genetico trasmesso per via orizzontale, organizzato in isole genomiche (GIs), molte delle quali possono essere considerate isole di patogenicità (PAIs). Allo scopo di identificare il corredo genomico completo necessario per conferire agli AEEC la piena virulenza, abbiamo confrontato il genoma di due ceppi AEEC VT-produttori (VTEC) a bassa virulenza isolati da piccioni, con quello del ceppo EHEC O157:H7 EDL933 mediante la metodica dei *microarray*.

Con quest'approccio, sono state identificate due GIs, O#52 e O#57, assenti in entrambi i ceppi VTEC a ridotta patogenicità. La GI O#52 codifica una deossiribonucleasi (Z1873) e un fattore responsabile della resistenza al metilviologeno (Z1870). La GI O#57 possiede due geni che codificano rispettivamente un putativo fattore di colonizzazione intestinale (Z2053) e un putativo fattore di protezione dalle difese dell'ospite (Z2054).

La distribuzione negli AEEC di queste due putative PAIs è stata investigata per PCR in un pannello di ceppi costituito da 23 stipiti EHEC O157 appartenenti a diversi sierogruppi, 39 EHEC non-O157 e 42 EPEC isolati da diverse sorgenti. Inoltre sono stati saggiati anche isolati di *E. coli* appartenenti ai patogruppi enteroaggregativo (EAEC), enterotossigenico (ETEC), necrotossigenico (NTEC) e ceppi di *E. coli* K12 di laboratorio.

Entrambe le isole di patogenicità erano presenti in tutti gli EHEC O157 analizzati. La GI O#52 era presente nel 37% dei ceppi EHEC non-O157 e nel 62% degli isolati EPEC ed era anche presente in molti dei ceppi EAEC, ETEC e NTEC. Al contrario la GI O#57 era strettamente associata agli AEEC, in quanto presente nell'84% dei ceppi EHEC non-O157 e nel 71% degli isolati EPEC e assente in tutti gli isolati di *E. coli* appartenenti ad altri patogruppi.

## **P43 PREVALENZA E ANTIBIOTICORESISTENZA DI *CAMPYLOBACTER SPP.* IN ANIMALI DA ALLEVAMENTO IN LOMBARDIA**

Gianmario Zotti (a), Anna Farina (b), Loris Alborali (a), Mirella Pontello (b)  
(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Milano  
(b) Istituto di Igiene, Università degli Studi di Milano

*Campylobacter* è un patogeno la cui diffusione nel comparto animale e da qui, attraverso l'alimento, all'uomo, e l'alto grado di patogenicità, sono sicuramente influenzati dal sempre più crescente numero di microrganismi multiresistenti. L'indagine, condotta nel periodo ottobre 2004-settembre 2005 presso la Sezione di Diagnostica Generale dell'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna con sede a Brescia, ha riguardato la ricerca del *Campylobacter* in campioni di materiale fecale e parenchima epatico provenienti da animali vivi o da poco deceduti. In totale sono stati analizzati 513 campioni per il 79,5% (n=408) provenienti dalla filiera suinicola, il 6,2% dal comparto avicolo e il 14,3% da quello bovino. Per la filiera suinicola i campioni positivi sono stati 235 (57,6%): di questi il 63% è risultato rappresentato dalla specie *C. coli* (in accordo coi dati riportati in letteratura), il 10,5% da *C. jejuni* e il 26,5% da altre specie (che abbiamo indicato come *C. spp.*). Negli altri due comparti, la positività registrata è stata del 34,4% (corrispondente a 11 stipiti) per gli avicoli con una predominanza di *C. jejuni* (63%), per i bovini (n=73) tutti i campioni sono risultati negativi per la presenza di *Campylobacter*. Gli stipiti sono stati testati per verificare la resistenza/sensibilità a 28 sostanze antibiotiche utilizzate in ambito veterinario e anche medico. In questa sede riporteremo i risultati sull'antibioticoresistenza riferendoci solo alla filiera suinicola. I dati mostrano nel complesso un grado di resistenza medio agli antibiotici testati pari al 55,6%. Nello specifico è significativo evidenziare l'elevata frequenza del carattere di resistenza per la penicillina (96,8%), la cloxacillina (99,8%), la neomicina (89,7%) e il sulfametazolo+trimetoprim (98,8%); i ceppi sono tutti risultati poli-resistenti. In particolare si registrano risposte notevolmente diverse alla tetraciclina da parte di *C. jejuni*, maggiormente coinvolto in casi di infezioni umana, (91,7% di ceppi resistenti) rispetto alle restanti specie (76,6%). Per tutte le specie lo spettro più frequentemente osservato (46 ceppi su 90 completamente testati) include la resistenza ad otto composti (acido nalidixico, apramicina, cefaloridina, cloxacillina, flumequina, kanamicina, penicillina, spiramicina). Dai risultati emerge che, data l'alta prevalenza dell'infezione e data la frequenza di ceppi antibioticoresistenti (sviluppati in seguito alla pressione selettiva esercitata dall'utilizzo di antibiotici in zootecnia), è divenuta ormai fondamentale l'istituzione di una rete di sorveglianza per *Campylobacter*, relativa sia alla prevalenza del patogeno negli animali d'allevamento sia all'incidenza della malattia nell'uomo (in Italia non è prevista la notifica dei casi di campylobacteriosi).

## INDICE DEGLI AUTORI

- Abelli Laura Anna; 15; 56; 57  
Acciari Vicdalia Aniela; 17  
Adragna Maria Anna; 41  
Adriano Daniela; 16  
Affaticato Valentina; 41  
Agnoletti Fabrizio; 66  
Albano Fabio; 11  
Alborali Loris; 82  
Aleo Aurora; 50; 51  
Aloisi Annalisa; 57  
Alonso Alvarez Silvia; 17  
Amurri Michele; 76  
Anniballi Fabrizio; 18  
Arcangeletti Maria Cristina; 56; 57  
Arena Sergio; 34; 53  
Arista Serenella; 40; 55  
Balocchini Emanuela; 8  
Barbanera Martino; 19  
Barbaro Antonio; 31  
Barbuti Salvatore; 28  
Barca Lorella; 66  
Bartoli Mario; 26; 66  
Battisti Antonio; 20; 37; 38  
Bella Antonino; 21  
Bellacicco Anna; 45  
Belvedere Manuela; 22  
Benassi Mario; 36  
Benedetti Ildo; 34; 53  
Bergami Raffaella; 19  
Berni Canani Roberto; 11  
Berto Eleonora; 69  
Bettini Francesca; 27  
Bianchi Cinzia; 16  
Bianchi Daniela Manila; 22  
Bilei Stefano; 53; 62; 79  
Bonanno Carmen; 64  
Boscolo Daria; 17  
Botta Anna; 73  
Bozzo Giancarlo; 45  
Brigotti Maurizio; 12  
Bruni Giordano; 65  
Brusa Fulvio; 16  
Buccella Carmela; 20  
Buonavoglia Canio; 15; 45; 55  
Busani Luca; 44; 75  
Cacciò Simone; 9  
Calcara Francesco; 41  
Caligiuri Vincenzo; 26; 66  
Camaggi Anna; 46  
Camarda Antonio; 23; 65  
Camero Michele; 55  
Caprioli Alfredo; 3; 12; 44; 73; 75; 81  
Caprioli Andrea; 25  
Capuano Federico; 26; 66  
Caputi Giovanni; 58  
Caracappa Santo; 51  
Carattoli Alessandra; 23  
Cardamone Cinzia; 33; 51  
Carli Agostino; 59  
Carnicelli Domenica; 12  
Caroli Daniela; 29  
Carullo Maria Rosaria; 26  
Cassisa Alessandro; 41  
Catelli Elena; 60  
Cattoli Giovanni; 66  
Cavalli Alessandra; 55  
Cenci Telemaco; 76  
Cerci Tamara; 20  
Cerioli Monica; 60  
Cerrone Anna; 66  
Chezzi Carlo; 15; 56; 57  
Chiaretto Giuseppina; 27; 69  
Chiavacci Laura; 31  
Chiocco Dorianò; 63; 64  
Chironna Maria; 28; 72  
Cibin Veronica; 4; 69  
Cibotti Silvia; 76  
Ciofi degli Atti Marta Luisa; 73  
Circella Elena; 23; 65  
Cirillo Giuseppe; 29  
Colomba Claudia; 40  
Colombo Fabio; 77  
Cordaro Gessica; 20; 37; 38  
Corradi Domenico; 57

Corrò Michela; 27  
 Costa Antonella; 33; 51; 52  
 Crespi Ilaria; 32; 46  
 Crotti Daniele; 30  
 D'Incau Mario; 65  
 Dalla Pozza Maria Cristina; 69  
 Dambrosio Angela; 47  
 Dandone Francesco; 41  
 D'Annibale Maria Letizia; 30  
 De Cesare Alessandra; 23  
 De Conto Flora; 56; 57  
 De Fanti Alessandro; 57  
 De Grazia Simona; 40  
 De Santis Antonio; 55  
 De Santis Paola; 62; 79  
 De Vito Danila; 58  
 Decaro Nicola; 55  
 Decastelli Lucia; 16; 22; 31; 32; 49  
 Del Chiaro Livio; 25  
 Del Gaudio Giuseppe; 55  
 Del Sante Maria Francesca; 57  
 Dell'Aquila Lorenzo; 58  
 Dettori Giuseppe; 15; 56; 57  
 Di Bari Cesare; 72  
 Di Bartolo Ilaria; 25  
 Di Egidio Alessandra; 20; 37; 38  
 Di Fluri Giuseppe; 73  
 Di Gaetano Vincenzo; 41  
 Di Giampietro Gina; 79  
 Di Gioia Gianluca; 45  
 Di Gioia Salvatore; 49  
 Di Matteo Paola; 20; 37; 38  
 Di Noto Anna Maria; 33; 51; 52  
 Dilani Adelaide; 27  
 Dionisi Anna Maria; 23; 34; 44; 46; 53  
 Dodi Icilio; 57  
 Donati Valentina; 20; 37; 38  
 Durante Giangaetano; 39  
 Fanelli Incoronata; 35; 70; 80  
 Farina Anna; 42; 82  
 Fenicia Lucia; 18  
 Ferrantelli Vincenzo; 51  
 Ferretti Alfonso; 73  
 Fezia Giorgio; 16  
 Filetici Emma; 34; 46; 53  
 Filidei Paolo; 53  
 Fischetti Roberto; 36  
 Fisichella Stefano; 78  
 Fontana Ettore; 16  
 Fontana Gabriele; 42  
 Fortina Giacomo; 32; 46  
 Franco Alessia; 20; 37; 38  
 Franzoni Mery; 77  
 Galetta Pasquale; 3; 21; 29; 34  
 Galiero Giorgio; 39; 73  
 Galli Franco; 36  
 Gallina Silvia; 16; 31; 32  
 Gasperetti Laura; 36  
 Giammanco Giovanni; 40  
 Giannotti Maria; 53  
 Gisone Bartolomeo; 41  
 Giuliano Giovannina; 26  
 Goffredo Elisa; 47  
 Gramigna Maria; 42; 67  
 Grassi Maria Ausilia; 43  
 Grasso Guido Maria; 35; 48; 71; 80  
 Grasso Stefania; 32; 46  
 Graziani Caterina; 44  
 Greco Grazia; 45  
 Gruppo di coordinamento Enter-net  
     Italia; 21  
 Guarino Alfredo; 11  
 Guazzini Lucia; 53  
 Guida Ivana; 51; 52  
 Iurescia Manuela; 37; 38  
 Kroumova Vesselina; 32; 46  
 La Neve Fabio; 43  
 La Salandra Giovanna; 47  
 La Torre Laura; 47; 61  
 Lalle Marco; 9  
 Lavazza Antonio; 60; 65  
 Leone Annalisa; 48; 70; 71  
 Lorusso Eleonora; 15; 55  
 Lovari Sarah; 20; 37; 38  
 Lucarelli Claudia; 44  
 Lucente Maria Stella; 45  
 Luzzi Ida; 3; 34; 35; 46; 53; 70; 71  
 Macaluso Paola; 46  
 Magistrali Chiara; 37  
 Magliola Renata; 49  
 Mammìna Caterina; 33; 41; 50; 51; 52  
 Mancin Marzia; 4

Manfreda Gerardo; 23  
 Manuppella Annamaria; 29  
 Maranini Bruno; 53  
 Marconi Paola; 53  
 Marrocco Maria Grazia; 79  
 Martella Vito; 15; 55  
 Martelli Francesca; 25  
 Martinelli Domenico; 58  
 Martinelli Monica; 15; 56; 57  
 Marziano Maria Luisa; 73  
 Masini Laura; 62; 63  
 Massai Gianni; 53  
 Mazzini Claudio; 19  
 Mazzolini Elena; 66  
 McLauchlin Jim; 48  
 Medici Maria Cristina; 15; 56; 57  
 Mercati Giuseppe; 29  
 Merialdi Giuseppe; 37; 38  
 Merola Rosanna; 73  
 Miccolupo Angela; 61  
 Migliorati Giacomo; 17  
 Milioni Carla; 36  
 Minelli Fabio; 73; 75  
 Minorello Claudio; 69  
 Mioni Renzo; 23  
 Mirabella Giorgia; 58  
 Miracapillo Vincenza; 62  
 Mogliotti Paola; 16  
 Molina Marina; 29  
 Montagna Cosimo; 62; 63  
 Montini Giovanni; 73  
 Morabito Stefano; 20; 81  
 Morena Carmelo; 39  
 Moroder Ludwig; 29; 59  
 Murgia Maria Vittoria; 60  
 Nardella Maria Concetta; 47  
 Nastasi Antonino; 5; 50; 52  
 Natale Maria; 61  
 Neve Anna; 72  
 Normanno Giovanni; 47; 64  
 Nuzzolese Nicoletta; 61  
 Olivieri Giuseppina; 33  
 Onorati Roberta; 20  
 Ortali Francesco; 29  
 Ortoffi Marco; 43  
 Ostanello Fabio; 25  
 Ottaviani Donatella; 62; 63  
 Owczarek Slamowir; 34; 44  
 Paglionico Natalia; 63  
 Palazzo Maria Antonia; 39  
 Pallotti Adolfo; 17  
 Parisi Antonio; 61; 62; 63; 64  
 Partecipanti alla rete Enter-net; 34  
 Pavan Anna; 42; 67  
 Pecoraro Carmine; 73  
 Pedarra Carmine; 47; 64  
 Pennelli Donato; 65  
 Perin Roberto; 27  
 Perugini Anna Giannina; 26; 66  
 Pezzotti Giovanni; 22  
 Pilla Maria Teresa; 67  
 Pinardi Federica; 56; 57  
 Pipitone Giovanni; 41  
 Pizzuti Renato; 73  
 Pontello Mirella; 42; 67; 82  
 Postiglione Chiara; 11  
 Pourshafie Mohammad Reza; 68  
 Pozio Edoardo; 9  
 Principe Vincenza; 17  
 Procaccino Maria Antonietta; 75  
 Quaglia Nicoletta Cristina; 47  
 Quarto Michele; 28; 72  
 Ramirez Stefania; 40  
 Ranjbar Reza; 68  
 Reggiani Cristina; 78  
 Regina Francesco; 41  
 Ricci Antonia; 4; 23; 27; 37; 38; 44; 69  
 Ricci Roberto; 57  
 Ripabelli Giancarlo; 35; 48; 70; 71; 80  
 Rizzi Valentina; 17  
 Rizzo Caterina; 58  
 Rizzo Giovanni; 58  
 Rizzoni Gianfranco; 12  
 Rosmini Roberto; 17  
 Rotili Mariana; 71  
 Rubinetti Francesca; 31  
 Rubino Candida; 41  
 Ruggeri Franco; 25  
 Ruggia Anna; 39  
 Russo Alesi Enza Maria; 33  
 Salinetti Anna Paola; 53; 79  
 Sallustio Anna; 28; 72

Sammarco Michela Lucia; 35; 70; 71; 80  
Santagada Gianfranco; 61  
Scaramagli Sonia; 19  
Scaramella Lucia; 79  
Scavia Gaia; 3; 73; 75  
Scuota Stefania; 76  
Serena Francesca; 53  
Serra Roberto; 6  
Serraino Andrea; 17  
Smaldone Rosa Maria; 53  
Sodano Maria; 58  
Soltan Dallal Mohammad Mahdi; 68  
Sona Bruno; 22  
Soncini Gabriella; 77  
Sorbara Luigi; 20; 37; 38  
Sottili Roldano; 64  
Spanò Alberto; 64  
Sperone Vilma; 16; 22; 32  
Staffolani Monica; 76; 78  
Stefan Alessandra; 19  
Supino Maria Teresa; 39  
Susca Antonella; 63  
Tagliabue Silvia; 65  
Tazzari Pier Luigi; 12  
Tempesta Maria; 55  
Tinelli Sebastiano; 45  
Tolari Francesco; 25  
Tolli Rita; 79  
Torosantucci Lorenzo; 80  
Tozzi Alberto Eugenio; 12; 73; 75  
Tozzoli Rosangela; 81  
Trani Anna Maria; 73  
Ulissi Maria Agnese; 67  
Valle Domenica; 77  
Valnegri Luciana; 77  
Vercellotti Lorenzo; 77  
Villa Laura; 44  
Zavagnin Paola; 69  
Zerbini Laura; 57  
Zicavo Alessia; 76  
Zotti Gianmario; 82

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN  
a stampa o online deve essere preventivamente autorizzata.  
Le richieste possono essere inviate a: [pubblicazioni@iss.it](mailto:pubblicazioni@iss.it).*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl  
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

*Roma, dicembre 2005 (n. 4) 1° Suppl.*